

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 438

Travail du Laboratoire de Chimie Organique
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et des Laboratoires de Pharmacie de l'Hôpital E. Herriot
et de l'Hôpital de la Croix-Rousse

**CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE
L'ASSAINISSEMENT DES EAUX RÉSIDUAIRES
D'UN HOPITAL DE CONTAGIEUX**

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

le 23 Janvier 1953

PAR

Robert VIGNE

*Certifié d'Etudes Spéciales de Sérologie
Certifié d'Etudes Supérieures de Chimie Biologique
Diplômé de l'Institut de Pharmacie Industrielle
Ex-Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Lyon*



LYON

Imprimerie FORT

15, Rue Victorien-Sordou

1953

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ASSAINISSEMENT
DES EAUX RESIDUAIRES
D'UN HOPITAL DE CONTAGIEUX

UNIVERSITÉ DE LYON

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE - N° 438

Travail du Laboratoire de Chimie Organique
de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et des Laboratoires de Pharmacie de l'Hôpital E. Herriot
et de l'Hôpital de la Croix-Rousse

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE L'ASSAINISSEMENT DES EAUX RÉSIDUAIRES D'UN HOPITAL DE CONTAGIEUX

THÈSE

POUR LE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

SECTION DE PHARMACIE

présentée et soutenue publiquement devant la Faculté de Médecine et de Pharmacie

le 23 Janvier 1953

PAR

Robert VIGNE

*Certifié d'Etudes Spéciales de Sérologie
Certifié d'Etudes Supérieures de Chimie Biologique
Diplômé de l'Institut de Pharmacie Industrielle
Ex-Interne en Pharmacie des Hôpitaux de Lyon*



LYON

Imprimerie FORT

15, Rue Victorien-Sordou

1953

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Doyen honoraire
Doyen.
Assesseur.

M. J. LEPINE.
M. HERMANN.
M. GATE.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. NICOLAS, VILLARD, COLLET, CLUZET, BERARD, GUIART,
PIERY, CADE, MOREL, PATEL, FAVRE, LEPINE, SAVY, TRILLAT, LERICHE, MOURIQUAND

PROFESSEURS

Clinique médicale A
Clinique médicale B
Clinique chirurgicale A
Clinique chirurgicale B
Clinique médicale infantile et hygiène du 1^{er} âge
Clinique ophtalmologique
Clinique d'oto-rhino-laryngologie
Clinique urologique
Clinique et prophylaxie de la tuberculose
Clinique dermatologique et syphiligraphique
Clinique neuro-psychiatrique et Hygiène mentale
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie
Clinique gynécologique
Clinique obstétricale
Clinique stomatologique
Histologie
Pharmacie et Pharmacologie
Matière médicale et Botanique
Physiologie
Anatomie pathologique
Physique biologique, Radiologie et Physiothérapie

MM. FROMENT.
P. RAVAUULT
SANTY.
WERTHEIMER.
BERNHEIM.
BONNET.
REBATTU.
CIBERT.
DUFOURT.
GATE.
DECHAUME.
SEDALLIAN.
GUILLEMINET.
POLLOSSON.
PIGEAUD.
DUCLOS.
NOEL
LEULIER.
X...
HERMANN.
MARTIN J.-F.
PONTHUS.
(détaché à Beyrouth)
MAZEL.
GARIN.
ROCHET.
CHAMBON.
JOSSELAND.
DELORE.
GABRIELLE.
CROIZAT.
ENSELME.
MALLET-GUY.
JOURDAN.
REVOL.
BOURRET.
LEVRAT.
SCHIER.
BERTRAND.

Médecine du travail
Parasitologie et Pathologie exotique
Thérapeutique chirurgicale et Chirurgie opératoire
Chimie organique et Toxicologie
Pathologie générale et expérimentale
Hydrologie thérapeutique et Climatologie
Anatomie
Pathologie interne
Chimie biologique et médicale
Pathologie chirurgicale
Biologie médicale
Pharmacie galénique
Médecine légale et Déontologie
Thérapeutique
Hygiène
Propédeutique chirurgicale



PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique..... M. BANSILLON.

Pharmacie et Pharmacologie DREVON.

Chimie organique et Toxicologie BADINAND

MAITRES DE CONFERENCES — AGREGES

Physique biologique BERGER.
Parasitologie COUDERT.
Parasitologie ROMAN.

Matière médicale et Botanique NETIEN.
Histologie TUSQUES.

AGREGES EN EXERCICE

MM.
Pathologie médicale BRUN.
Pathologie médicale M. GIRARD.
Pathologie médicale P. GIRARD.
Pathologie médicale JEUNE.
Pathologie médicale VACHON.
Pathologie chirurgicale BERARD.
Pathologie chirurgicale DARGENT.
Pathologie chirurgicale DESJACQUES.
Pathologie chirurgicale LABRY.
Pathologie chirurgicale MANSUY.
Pathologie chirurgicale TRILLAT.
Pathologie chirurgicale GUILLET.
Obstétrique BROCHIER.
Obstétrique MAGNIN.
Anatomie pathologique GUICHARD.

MM.
Anatomie LATARJET
Neuro-chirurgie LECUIRE.
Oto-rhino-laryngologie MAYOUX.
Ophtalmologie PAUFIQUE.
Urologie PERRIN.
Dermato-syphiligraphie THIERS.
Médecine légale et Médecine du Travail ROCHE.
Chimie biologique R. CREYSSSEL.
Bactériologie BERTOYE.

CHARGES DES FONCTIONS D'AGREGE

Hygiène COUTURE.
Physiologie CIER.

EXAMINATEURS DE LA THESE

Président : M. CHAMBON ; Assesseurs : MM. BERTOYE, COUTURE et DORCHE.

La Faculté de Médecine de Lyon déclare que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MES PARENTS

A MES MAITRES DE LA FACULTE
ET DES HOPITAUX

A MES AMIS

A L'INTERNAT EN PHARMACIE
DES HOPITAUX DE LYON

A MON PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR M. CHAMBON

Professeur de Chimie Organique et de Toxicologie.

*Membre du Conseil d'Hygiène départemental du Rhône,
et de la Commission Sanitaire de Lyon-Est.*

Pharmacien en Chef de l'Hôpital E. Herriot.

Chevalier de la Légion d'Honneur.

Je suis heureux de pouvoir lui témoigner ma reconnaissance pour m'avoir confié ce travail, et pour l'honneur qu'il me fait en le présidant. Je dois le remercier également pour les marques d'estime et les conseils qu'il m'a toujours prodigués au cours de mon Internat, et le prie de croire à mon respectueux attachement.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41553221_0079

A MES JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ J. DORCHE

Je suis sensible à l'amitié qu'il me porte depuis un séjour à l'Hôpital de la Croix-Rousse dont je conserve un souvenir inoubliable. Je le remercie aujourd'hui pour l'honneur qu'il me fait en jugeant ce travail, et le prie de croire à mon entier dévouement.

.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. BERTOYE

Je lui suis vivement reconnaissant de l'accueil courtois qu'il m'a toujours réservé, particulièrement à l'occasion de cette Thèse, dont il me fait l'honneur d'être Juge.

MONSIEUR LE DOCTEUR E. COUTURE

Je tiens à lui exprimer ma gratitude pour l'affabilité et la bienveillance qu'il m'a manifestées au cours de mes études, ainsi qu'à l'occasion de cette Thèse qu'il a bien voulu me faire l'honneur de juger.

CONTRIBUTION A L'ETUDE DE L'ASSAINISSEMENT
DES EAUX RESIDUAIRES
D'UN HOPITAL DE CONTAGIEUX

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE DE LA CHLORATION
SUR LES MATIÈRES ORGANIQUES

PLAN

INTRODUCTION. — Historique des eaux résiduaires.

Chapitre 1. — Aspects généraux du traitement des eaux résiduaires.

— Définitions; origines.

— Sort des eaux résiduaires :

Collecte des eaux résiduaires.

Assainissement du sewage : méthodes biologiques :

Epandage. Lits percolateurs. Boues activés.

Lits bactériens.

Evacuation finale.

— Les germes vivants du sewage.

— Prescriptions du Conseil Supérieur d'Hygiène.

Chapitre 2. — Le chlore actif, agent bactéricide.

— Définition.

— Historique.

— Principales techniques de chloration :

Méthodes à chlore liquide.

Les hypochlorites :

Javellisation. Verdunisation. Procédés Berge,

Calvert-Davies, Duyk-Howatson.

Chapitre 3. — Caractères physiques et chimiques du sewage.

- Rôle des Lipides.
- Rôle des Glucides.
- Rôle des Protides.

Chapitre 4. — Dosage du chlore actif.

- Dosages colorimétriques :
Benzidine. Orthotolidine.
- Dosages volumétriques.
- Evaluation du chlore labile.

Chapitre 5. — Action du chlore sur les matières organiques.

- Cas d'une solution de peptone :
 - Influence de la température.
 - Influence de la durée de réaction.
 - Influence de la concentration de chlore actif.
 - Influence du pH du substrat.
- Cas d'une solution d'urée.
- Chloration chimique du sewage.

INTRODUCTION

L'étude que nous allons entreprendre, et qui nous a été confiée par notre Maître et Président de Thèse, Monsieur le Professeur CHAMBON, poursuit deux buts principaux :

— Tout d'abord, introduire quelque clarté dans le domaine de l'action bactéricide du chlore.

— Rechercher ensuite les meilleures conditions pour un traitement par le chlore actif, dans le cas des eaux résiduaires d'un hôpital de malades contagieux.

Les eaux résiduaires présentent toujours un danger certain, en raison de leur pollution chimique et surtout bactérienne. On ne doit jamais s'en débarrasser sans leur faire subir un traitement pour neutraliser cette nocivité.



L'évacuation des eaux usées est liée au plan général d'urbanisme et permet de juger de l'état d'évolution d'une collectivité.

ROME fut dotée de bonne heure d'un réseau d'égouts remarquablement conçu par TARQUIN L'ANCIEN. On peut en voir encore les vestiges, et notamment l'issue de la « Cloaca maxima » sur le Tibre.

Au Moyen-Age, et pendant une grande partie des Temps Modernes, on ne manifeste que très peu d'intérêt pour ce problème.

PARIS a doublé le cap du demi-million d'habitants vers le début du XVII^e. La longueur totale du réseau d'égouts ne dépassait pas 2.300 mètres. On sait que les eaux résiduaires se rassemblaient en ruisseaux, coulant au milieu des rues et se déversant finalement dans la Seine.

Celle-ci, ainsi que ses affluents, l'Ourcq, la Bièvre et la Grange-Batelière, était si fortement polluée à l'époque de

Henri III, que des marécages pestilentiels entouraient la Cité. On accusait souvent ceux-ci de « fièvres », plus ou moins fatales, auxquelles les intrigues de cour n'étaient, souvent, pas non plus étrangères.

La situation n'était pas beaucoup plus brillante, si l'on peut dire, au Grand Siècle.

On voit l'eau bue « à la ville et à la cour », provoquer de nombreux cas de diarrhée parmi les nouveaux venus dans la capitale. Les animaux domestiques vaguaient souvent dans les rues, protégés parfois par des édits. Personne n'y trouvait trop à redire d'ailleurs, et BOILEAU, à qui nous devons une peinture très vivante de la vie à son époque, signale sans s'émouvoir :

« Je saute vingt ruisseaux, j'esquive, je me pousse,
Guénaud, sur son cheval, en passant m'éclabousse. »

Il faut dire cependant que des travaux furent entrepris sous COLBERT, par le Lieutenant de police LA REYNIE, qui fit creuser des égouts, paver des rues et éclairer certaines artères.

Ce n'est finalement qu'entre 1855 et 1865, que le baron HAUSSMAN, au milieu de critiques presque unanimes, fit creuser — entr'autres réalisations — 800.000 mètres d'égouts qui constituent encore l'ossature du réseau actuel.

CHAPITRE PREMIER

ASPECTS GENERAUX DU TRAITEMENT DES EAUX RESIDUAIRES

Au cours de ce chapitre, nous envisagerons successivement les divers problèmes posés par l'évacuation et l'assainissement des eaux résiduaires. Nous résumerons les principales méthodes d'épuration biologique, ainsi que l'incidence des germes vivants sur celle-ci. Nous rappellerons enfin les prescriptions du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique, concernant ces eaux.



CAMBIER [1] définit ainsi les eaux résiduaires :

« La plus grande partie des déchets, détritux et immon-dices, provenant de la vie et de l'activité humaine, se donnent rendez-vous dans ce que l'on est convenu d'appeler pour cette raison « eaux usées » ou « eaux résiduaires », et qui s'écoulent en quantité plus ou moins grande de toute habitation et de tout établissement à usage agricole ou industriel. »

Les Anglo-Saxons les désignent sous le terme de « sewage ».

Ces déchets constituent une étape du retour à la nature de nombreux éléments engagés dans des molécules minérales ou organiques plus ou moins complexes. Ce stade est marqué par la présence et l'intervention de multiples micro-organismes, dont il n'est plus besoin de rappeler le rôle et l'utilité.



[1] CAMBIER (R.). — Ann. d'Hyg. Paris, 1926, 509-527.

CAMBIER reconnaît à ces eaux, quatre origines principales :

— Eaux ménagères privées : cuisine, toilette, vaisselle, lavage.

— Eaux-vannes : W.-C. publics et privés.

— Eaux de lavage des cours de maison, étables, écuries, toujours plus ou moins chargées en matières fécales.

— Eaux industrielles : ateliers où se fabriquent des matières premières et des produits finis : abattoirs, boyauderies, distilleries, papeteries, tanneries...

Enfin, il ne faut pas oublier que les eaux de ruissellement sont très chargées en matières minérales et organiques, car elles lavent les gouttières qui sont le réceptacle des immondices les plus divers.

SORT DES EAUX RESIDUAIRES.

Les problèmes posés par les eaux résiduaires sont de trois ordres. Ils concernent essentiellement :

- La collecte, ou évacuation initiale.
- L'assainissement.
- Le rejet définitif.



Collecte des eaux résiduaires.

Il existe deux systèmes principaux d'évacuation initiale des eaux usées :

— L'évacuation « statique », consiste simplement à rejeter ces eaux dans une fosse fermée, où elles sont conservées pendant un temps variable. Ce système est représenté surtout par :

a) Les fosses à vidange, ordinaires. Elles doivent : 1°) être étanches, pour éviter toute pollution des nappes d'eau souterraines; 2°) communiquer avec l'atmosphère par une manche

à air s'ouvrant sur les toits et munie d'un grillage, pour empêcher les moustiques d'aller pondre dans la fosse.

b) Les fosses septiques, dont nous exposerons le principe et le fonctionnement à propos des lits bactériens. Elles résolvent à la fois le problème de l'évacuation et celui de l'assainissement.

— L'évacuation « dynamique », rassemble les eaux usées d'une collectivité, par des collecteurs dits « unitaires » ou « séparatifs » suivant qu'ils reçoivent simultanément ou non les eaux de ruissellement.

C'est le principe du « tout à l'égout ». Il prélude ordinairement à un assainissement par voie biologique ou chimique, et se termine en général par le rejet dans un cours d'eau d'un effluent théoriquement dépourvu de nocivité. Ce système du « tout à la rivière » a été très employé par le passé, et l'est encore souvent sans qu'il soit question d'un quelconque traitement. Il en résulte souvent une pollution considérable du cours d'eau.



Assainissement du sewage.

Il existe deux méthodes fondamentales pour assainir les eaux résiduaires :

- La méthode basée sur l'épuration biologique.
- La méthode basée sur les traitements physiques ou chimiques.

Laissant de côté, pour l'instant, les techniques physico-chimiques, dont la principale, qui utilise les propriétés bactéricides du chlore actif, forme le but de nos travaux, nous allons voir rapidement les principales applications que l'on a fait de la méthode biologique.

D'une façon générale, les techniques dérivées de cette méthode, utilisent les propriétés des bactéries de la nitrification, entrevues par SCHLOESING et MUNTZ, en 1878, isolées et cultivées par WINOGRADSKI et OMELIANSKI, en 1891.

Ce sont les procédés dits de l'épandage, des lits percolateurs, des boues activées et des lits bactériens.

ÉPANDAGE.

L'épandage consiste à répandre le sewage sur de vastes terrains réservés pour cet usage.

Un mètre carré de terrain permet de filtrer environ 11 litres par jour. Un assainissement convenable ne doit porter que sur la moitié de ce volume, et une nitrification complète, lorsque les champs sont destinés ultérieurement à la culture, sur le quart. Le sol s'enrichit en moyenne de 40 gr. d'azote par mètre carré et par an.

Les champs de Gennevilliers, Achères et Carrières-Triel, couvrent 5.000 hectares et reçoivent chaque jour 600.000 mètres cube d'eaux résiduaires.

Le sol doit comporter trois couches :

- Une supérieure, d'humus,
- Une moyenne, sablonneuse et perméable.
- Une inférieure, argileuse et imperméable.

L'imperméabilité de cette dernière couche permet d'éviter la souillure des nappes d'eau souterraines. Elle doit être assez profonde pour éviter la stagnation du sewage en surface, et présenter une déclivité suffisante pour qu'il puisse se collecter finalement dans un déversoir naturel : un cours d'eau, en général.

La nitrification présente un bon rendement lorsqu'on peut aérer le sol, par un épandage intermittent : 8 heures sur 24

Procédé FRANKLAND —

L'épuration chimique est bonne et les champs deviennent remarquablement fertiles. L'épuration des germes est beaucoup plus irrégulière, et on ne doit pas y cultiver des légumes à manger crus. WURTZ et MOSNY ont montré que les cellules extérieures de la racine et de la tige, peuvent contenir des germes du sol.

Ce procédé est excellent, mais exige des surfaces considérables, encore augmentées par la nécessité de la rotation de ces champs. Si l'agglomération n'est pas située à un étage supérieur, il faut prévoir d'importantes installations de pompage et d'adduction. Le sol a tendance à se colmater et le gel est à redouter.

L'intérêt économique de ces champs décroît avec l'augmen-

tation de la quantité d'eau mise à la disposition du consommateur : le rendement de la nitrification diminue.

Les eaux résiduaires contiennent de plus en plus, à l'heure actuelle, des déchets industriels plus ou moins nuisibles pour le traitement.

On a voulu perfectionner ce procédé, pour accélérer la nitrification et réduire l'encombrement.

LITS PERCOLATEURS.

Le procédé des lits percolateurs, consiste à pulvériser le sewage décanté, à travers des tubes horizontaux perforés, tournants ou fixes. L'aération active la nitrification, mais le rendement reste faible pour les grandes installations.

BOUES ACTIVÉES.

L'aération prolongée du sewage, provoque l'apparition de boues, constituées essentiellement par des particules de carbonate de chaux, enrobées de matières albuminoïdes. Le carbonate de chaux est dû à la décomposition de bicarbonate de calcium. L'adsorbat est gélatineux et recèle une quantité énorme d'agents nitrificateurs. On retrouve un tel adsorbat dans les lits bactériens.

Ces boues ont des caractères spéciaux : elles sont légères, brunes, floconneuses et homogènes. Elles se sédimentent facilement et le liquide surnageant est limpide et sans odeur putride.

On les ajoute au sewage dans la proportion de 10 à 20 %. La nitrification est 15 à 20 fois plus active que dans les champs, à la condition d'insuffler une grande quantité d'air. On y parvient au moyen de plaques poreuses situées dans le fond des bassins de traitement : procédé dit « de Manchester ». On peut encore employer une roue à aube, tournant en sens inverse du courant, dans les canaux d'adduction : procédé dit « de Sheffield », ou une turbine divisant les eaux résiduaires au moment où elles entrent dans les bassins : procédé dit « Simplex ».

Le contact nécessaire varie entre trois et six heures. On emploie les boues activées aux stations de Carrières-Triel, Achères et Montmesly.

La quantité de boues augmente sans cesse. Il faut en éva-

cuer une partie, de temps en temps. On les traite alors dans des digesteurs, vastes récipients clos, où elles subissent la fermentation anaérobie. Le méthane dégagé est parfois récupéré, et le résidu constitue un engrais excellent.

L'activité des boues subit parfois de brusques variations, auxquelles l'effet microbicide de certaines eaux industrielles n'est sans doute pas étranger.

LITS BACTÉRIENS.

Les eaux résiduaires sont tout d'abord décantées dans des bassins destinés à retenir les produits solides non fermentescibles.

On les soumet ensuite à la fermentation anaérobie en cuves fermées. Cette opération est parfois réalisée en grand avant l'épandage classique.

La fosse septique, dont nous avons déjà dit quelques mots, repose sur un principe analogue. Inventée par MOURAS en 1881, elle est destinée à l'épuration domestique des eaux-vannes.

Dans chaque cas, les eaux parviennent dans une fosse cimentée étanche, où s'établit rapidement un régime d'anaérobiose auquel contribuent les matières fécales elles-mêmes, qui forment en flottant un « chapeau » imperméable à l'air.

En cas de fosse ouverte, l'anaérobiose n'est jamais rigoureuse.

Les hydrates de carbone fermentent suivant des modalités variant avec leur nature propre, celle des germes en cause et les conditions biologiques du substrat.

Il se forme des gaz :

Anhydride carbonique, méthane,

et des acides :

Acétiques, propionique, butyrique, valérianique, succinique, lactique, maligne, etc...

Les protides colloïdaux ou insolubles sont plus ou moins liquéfiés et hydrolysés. Ils sont soumis ensuite à des actions complexes et parfois mal connues de décarboxylation et de désamination.

Il se forme des amines, souvent nauséabondes :

Mono-amines : éthylamine, propylamine, butylamine. (B. *subtilis*, Cl. *perfringens*, Cl. *sporogènes*).

— Di-amines : putrescine et cadavérine. (Cl. *tetani* et V. *cholerae* — éventuellement —).

Ces amines sont elles-mêmes décomposées, et, d'une façon générale, l'azote organique se retrouve sous forme d'ammoniaque libre et surtout de carbonate d'ammoniaque.

On note également l'apparition d'hydrogène sulfuré et même parfois d'hydrogène phosphoré, formés à partir du soufre et du phosphore de certaines molécules protéiques.

La fosse « anaérobie » communique avec une fosse « aérobie » par l'intermédiaire d'un siphon. C'est à ce stade que la nitrification du sewage fermenté s'opère dans les « lits bactériens » proprement dits. Ils sont constitués par des couches de scories, mâchefers, briques pilées, ou de tout autre corps de porosité élevée. C'est cette porosité qui joue le rôle fondamental, analogue à celui des particules de carbonate de chaux dans les boues activées. Il y a adsorption de matières albuminoïdes et d'agents nitrificateurs. L'aération est facile et la nitrification très active.

Les eaux qui sortent de ces lits sont généralement soumises à un épandage qui achève cette nitrification et amène la destruction des germes survivants sous l'influence de l'air et du soleil. Il faut pourtant éviter la stagnation de ces eaux dont la purification n'est pas parfaite et qui peuvent souiller gravement les puits et les sources.

Sur le plan domestique, la fosse septique serait un excellent moyen d'épuration si son fonctionnement était toujours parfait. En fait, l'absence de surveillance et la négligence des usagers rendent souvent son efficacité problématique (introduction d'antiseptiques, d'eaux savonneuses).

Evacuation finale.

Lorsqu'il s'agit d'une installation importante, le sewage épuré qui sort des lits bactériens est rejeté dans un cours d'eau, ou même éventuellement dans la mer.

Ce rejet a souvent lieu sans aucun traitement, ou, ce qui est peut-être pire, avec un traitement symbolique.

Il faut observer au moins les points suivants :

— Le rejet doit avoir lieu en aval de l'agglomération, dans le cas d'un cours d'eau; au large et en tenant compte des courants, dans le cas de la mer.

— Le volume rejeté doit rester faible par rapport au débit du cours d'eau. Il faut donc prévoir les baisses saisonnières.

Le mélange du sewage et de l'eau de rivière, perd peu à peu ce qui reste de bactéries et de matières organiques, sous l'influence du soleil et de l'aération. Une crue, en dépit d'une plus grande dilution du sewage, accroît cependant l'aire de pollution du cours d'eau : la turbidité réduit l'action de la lumière, et le refroidissement, celle des processus biologiques.

Des phénomènes septiques latents peuvent persister longtemps dans les vases, et reprendre une certaine intensité avec un réchauffement de la température : cas d'un été chaud et sec, ou du rejet de certaines eaux industrielles chaudes. Le cours d'eau devient insalubre, l'oxygène disparaît et les poissons meurent.

En mettant les choses au mieux, les eaux qui sortent des installations de traitement sont à peu près clarifiées lorsqu'on les rejette. Elles peuvent même déjà être rechargées en partie, en oxygène, et contenir des algues. Sans être rigoureusement exemptes de matières organiques, elles en contiennent beaucoup moins qu'au début de l'opération. Les bactéries sont aussi bien moins nombreuses : TANON [2] rapporte que 1 cc. d'eau d'égout qui contient plusieurs centaines de millions de germes, à Paris, n'en contient plus que quelques centaines, à la sortie dans la Seine du grand collecteur d'Asnières.

LES GERMES VIVANTS DU SEWAGE.

L'épuration biologique est sous la dépendance des germes vivants.

On peut les rattacher à divers groupes :

- Levures, infusoires, protozoaires.
- Microbes saprophytes, aérobies ou non.
- Microbes pathogènes, aérobies ou non.
- Virus et bactériophages.

[2] TANON. — Hygiène, Maloine édit. 1944.

La densité des germes, déjà considérable dans le sewage frais, augmente rapidement en fonction de la nature du substrat, dont la richesse en matières organiques fait souvent une sorte de véritable bouillon de culture.

Les hôtes de l'intestin, saprophytes et éventuellement pathogènes, s'y retrouvent en abondance. Chaque germe se comporte suivant ses possibilités et il s'établit rapidement une concurrence vitale acharnée entre les divers saprophytes qui résistent souvent aux conditions biologiques les plus défavorables et les pathogènes, dont beaucoup s'accommodent de moins en moins d'un substrat enrichi en ammoniacque et appauvri en oxygène.

Le problème est compliqué par le fait que beaucoup de pathogènes -- en particulier, ceux du groupe « hydrique » -- sont aussi plus ou moins adaptés à la vie saprophyte, et jouent un rôle actif dans la fermentation anaérobie, la nitrification et la dénitrification.

On comprend donc que l'épuration biologique n'offre pas de garantie absolue en ce qui concerne les germes nocifs.

Les phénomènes d'antibiose interviennent certainement dans cette concurrence vitale : certaines espèces peuvent prospérer en émettant des substances chimiques capables d'inhiber le développement d'autres espèces.

Le rôle des bactériophages est très important. Les eaux résiduaires en constituent même la principale source. Enfin, nombre de germes forment des spores dont la résistance est fortement augmentée.

* DIATROPOFF [3] attribue à « *V. cholerae* », une résistance de 8 jours, dans les eaux résiduaires d'Odessa, alors que STUTZER ne lui accorde qu'un sursis de 1/4 d'heure à Berlin et Potsdam. Ce fait pourrait être dû à la forte concentration d'ammoniacque du sewage de ces dernières villes : le même auteur constate en effet qu'un filtrat stérile tue également ce germe.

Mentionnons aussi que LÉPINE et MARCENAC [4] reconnaissent que le virus poliomyélitique éliminé par les selles des

[3] D'après « Précis d'Hygiène ». J. COURMONT. — Masson édit. 1940.

[4] LÉPINE et MARCENAC. — Bull. Acad. Nat. Méd., 132 : 262-266, 6-13 avril 1948.

malades, survit longtemps dans le milieu extérieur et résiste à l'épuration biologique qui n'aboutit qu'à le disséminer.



PRESCRIPTIONS DU CONSEIL SUPERIEUR D'HYGIENE PUBLIQUE

Le rappel de ces prescriptions trouve sa place à la fin de cet exposé, et résume les précautions à prendre pour pallier à l'imperfection des méthodes biologiques :

Le sewage épuré doit répondre à un certain nombre de conditions :

— Il ne doit pas contenir plus de 30 mg./litre de matières solides en suspension.

— Après filtration sur papier, l'oxydabilité ne doit pas varier sensiblement avant et après séjour de 7 jours à l'étuve à 30°, en flacons bouchés à l'émeri.

— On ne doit constater aucune odeur ammoniacale ou putride, avant ou après séjour à l'étuve.

— Il ne doit y avoir aucune substance capable d'intoxiquer les poissons ou les animaux.

Pour CAMBIER [1], ces prescriptions gagneraient à être précisées : on peut remarquer que beaucoup d'effluent à 29 mg. par litre, constitue une pollution supérieure à celle de peu d'effluent à 31 mg. Une oxydabilité de 0.5 mg. d'oxygène pour 1,5 mg. de matière organique est pire qu'une oxydabilité de 33 mg. d'oxygène pour 30 mg. de matière organique.

La Commission Royale Anglaise, pour l'étude des procédés d'épuration des eaux d'égouts, fixe à 30 mg./litre, le taux maximum des matières organiques en solution.

ABNEY [5] a mis au point un test de contrôle de l'épuration biologique, établi d'après la vitesse de disparition de l'oxygène dissout dans le mélange de sewage épuré et d'eau de rivière, maintenu pendant 5 jours à l'étuve à 18°.

Les Américains font également état d'un test analogue, qu'ils appellent « Biochemical Oxygen Demand » ou « B.O.D. ».

[5] D'après CAMBIER (R.). — Ann. d'Hyg. Paris, 1926, 509-527.

Citons pour terminer quelques statistiques :

Le volume de sewage, par temps sec, est proportionnel à la quantité d'eau distribuée à chaque habitant. Il atteint 160 litres à Paris, 135 litres à Londres, 100 litres à Berlin.

La région parisienne évacue chaque jour 1.3 à 1.5 million de mètres cubes. La longueur totale du réseau d'égouts atteignait 1.492 kms. en 1947.

Un mètre cube de sewage contient en moyenne 1.460 grammes de déchets divers :

— Matières lourdes insolubles	128 gr.
— Corps flottants	77 gr.
— Particules en suspension	377 gr.
— Substances dissoutes	880 gr.

Le résidu sec est donc constitué pour 1/4 à 1/5, de matières lourdes et de corps flottants.

A Clichy et St-Ouen, les unes sont séparées dans des bassins de décantation et les autres par des grilles mécaniques. Les eaux ainsi criblées, parviennent aux stations de traitement biologique par les usines élévatoires de Clichy, Colombes et Pierrelaye.

La quantité de poussières et de terre entraînée par les eaux résiduaires est considérable : près de 80.000 mètres cubes par an, à Paris.

La vitesse de sédimentation des particules en suspension présente un certain intérêt.

50 % se sédimentent à une vitesse de plus de 1.17 mm./seconde.

10 % se sédimentent à une vitesse comprise entre 0.75 et 1.17 mm.

10 % entre 0.40 et 0.75 mm.

10 % entre 0.18 et 0.40 mm.

10 % entre 0.03 et 0.18 mm.

10 % ne se sédimentent pratiquement jamais.

— D'après CAMBIER [1].



Ce tour d'horizon nous permet de préciser la place de l'étude que nous allons entreprendre maintenant : le traitement bactéricide par le chlore actif des eaux résiduaires d'un hôpital de malades contagieux, eaux que l'on rejette finalement dans un cours d'eau.

Nous venons de voir que les meilleures méthodes biologiques ne garantissent pas à coup sûr la destruction des pathogènes. Il est d'ailleurs à peu près impossible de prévoir un tel traitement dans l'enceinte d'un hôpital, par manque de place et aussi à cause de l'insalubrité notable de l'installation.

Un traitement chimique s'impose donc, afin de détruire au moins les germes dangereux dont la dissémination peut provoquer les pires accidents.

Nous allons nous borner pratiquement au cas du chlore actif.

La question présente des aspects chimiques, bactériologiques et techniques que nous envisagerons tour à tour.

CHAPITRE II

LE CHLORE ACTIF, AGENT BACTERICIDE

Nous allons tout d'abord retracer brièvement l'histoire du chlore actif dans le traitement des eaux.

Nous verrons ensuite les principales techniques de traitement en usage à l'heure actuelle, en ne nous étendant que sur celles qui sont prévues pour les eaux résiduaires, ou qu'on peut leur adapter facilement.

*
**

Il nous faut préciser exactement ce que l'on entend par « chlore actif ».

DAKIN [6] désigne ainsi, non seulement le chlore libre et les hypochlorites, mais d'une façon générale tous les corps qui possèdent un pouvoir oxydant en rapport avec le caractère électro-négatif et l'état moléculaire du chlore.

*
**

HISTORIQUE.

Le chlore actif est l'un des premiers agents qui fût employé pour détruire la flore pathogène des eaux.

TRAUBE, en 1884, emploie le chlorure de chaux, à la concentration de 4 mg./litre avec un contact de 2 heures, pour le traitement des eaux de consommation.

[6] DAKIN. — Presse Médicale, 30 septembre 1916.

Le chlorure de chaux :



contient environ 35 % de chlore actif libérable. En dépit de toutes les critiques, ce traitement rendit de nombreux services, notamment à Pola, en Istrie, et dans diverses localités des U.S.A.

En France, les premiers postes de chloration fonctionnent à Lectoure, dans le Gers, et à Middelkerke, dans le Pas-de-Calais.

Aux U.S.A., la chloration a connu de bonne heure un succès qui ne s'est pas démenti. En 1908, le chlorure de chaux est employé à Jersey-City. — 1 à 2 mg./litre, plusieurs heures de contact —. En 1910 et 1912, des stations à chlore liquide, sont installées à Niagara-Falls et Fort-Meyer.



PRINCIPALES TECHNIQUES DE CHLORATION.

Le chlore est fabriqué, stocké et employé :

a) Sous forme de chlore liquide, conservé sous pression et qu'on peut mélanger directement aux eaux à traiter. On peut aussi l'insuffler à l'état gazeux, après détente dans un appareil approprié, ou même le mélanger ou l'insuffler dans un certain volume d'eau, que l'on introduit ensuite dans le milieu à stériliser.

Ces méthodes sont très en faveur aux U.S.A., qui, en 1928, sur 6.000 stations de chloration, en comptaient plus de 70 % fonctionnant au chlore liquide.

b) Sous forme d'hypochlorite. Les principaux : eau de Javel et chlorure de chaux.

Leur manipulation est plus facile que celle du chlore liquide et l'appareillage est sensiblement moins onéreux.



Méthodes à chlore liquide.

Nous allons résumer l'organisation de la chloration du sewage d'Indianapolis (Indiana, U.S.A.), d'après CALVERT [7].

Les eaux sont d'abord criblées et décantées, ce qui les clarifie en partie. En été, les boues activées permettent de traiter environ 70 % de celles-ci. Antérieurement à cette chloration, instituée au cours de l'été 1930, les 30 % restant étaient rejetés directement, après décantation.

Le chlore actif est mélangé aux eaux sous forme liquide, ce qui simplifie l'installation en évitant les évaporateurs et les machines automatiques à chlore gazeux. L'appareil demande une surveillance constante, mais non la présence d'un spécialiste. Les ajutages à chlore liquide sont parfois encrassés par une substance gommeuse qui se trouverait dans le chlore lui-même (?), et nécessite l'emploi de filtres.

On a aussi essayé d'insuffler le chlore au travers d'une plaque poreuse, ce qui permet un mélange plus intime. Il est en effet peu souhaitable d'agiter trop tôt le mélange, car il y a des pertes de chlore par entraînement.

Ce traitement est contrôlé par la B.O.D. On doit obtenir une réduction de 35 % de la B.O.D. de 5 jours et de 15 à 20 % de celle de 10, lorsqu'on introduit une quantité de chlore suffisante pour qu'il en reste une trace après 10 minutes de contact. En réalité, la réduction de la B.O.D. est très irrégulière, et parfois ne dépasse pas 10 % en 5 jours, au cours de l'été. Ce contrôle semble donc manquer singulièrement de précision et de fidélité : on ne sait pas quels sont les germes touchés, ni dans quelle mesure ils le sont.

FICHERSTROM et GULLSTROM [8] sont les inventeurs d'un appareil automatique permettant l'introduction de quantités déterminées de gaz stérilisant — Chlore ou autre.

HORNUNG [9] combine chloration et ammonisation dans un appareil complexe destiné au traitement des eaux de consommation.

[7] CALVERT. — *Indust. et Engin. Chem.*, **24** : 92-94, Janvier 1932.

[8] FICHERSTRÖM et GULLSTRÖM. — *B. Suéd.*, **116** : 969, 31 mai 1941.

[9] HORNUNG. — *Monats Bull. Schweiz. ver Gaz u. Wasserfachmann*, **28** : 38-39, Février 1948.

On trouve encore aux U.S.A., les appareils WALLACE et TIERNAN; en Angleterre, les appareils PATTERSON; en Allemagne, les appareils ORNSTEIN.

ENSLow, GERSTEIN et BAYLISS [10] combinent le traitement au chlore avec le traitement à l'ammoniaque. Leur technique est très compliquée et ne paraît pas pouvoir être appliquée au sewage.

D'une façon générale, les méthodes à chlore liquide exigent un appareillage complexe, très résistant à la corrosion, et dont la manipulation, en raison du caractère suffocant du chlore, n'est pas sans danger.

En France, pays de finances plus modestes, on préfère les hypochlorites. Cependant, on trouve des installations à chlore liquide à Montpellier et Saint-Nazaire.



Les hypochlorites

Les méthodes employant les hypochlorites sont surtout la *Javellisation* et la *Verdunisation*. Nous dirons cependant quelques mots des méthodes de CALVERT-DAVIES, de DUYK-HOWATSON et de BERGE, relativement désuètes et peu employées.

LA JAVELLISATION.

Cette méthode se prête au traitement des eaux de consommation comme à celui des eaux résiduaires.

Le Conseil Supérieur d'Hygiène Publique réclame, pour les eaux destinées à la consommation, une limpidité parfaite et l'absence de nitrites, d'urée et d'ammoniaque. Il ne doit pas y avoir plus de 30 mg./litre de matières organiques dissoutes.

On ne peut évidemment en exiger autant du sewage.

[10] D'après « Traité des Eaux », IMBEAUX. — Masson édit.

LA VERDUNISATION.

Employée pour la première fois à VERDUN, en 1916, par le Commandant BUNAU-VARILLA, cette méthode est actuellement très en faveur en France, aux colonies et à l'étranger.

PILLEMENTS et M^{re} TECHOUEYRES ont étudié son application au sewage [11] :

— On introduit dans les eaux des quantités d'hypochlorite de soude de l'ordre de 1 à 10 décimilligrammes d'équivalent de chlore actif par litre.

On agite énergiquement le mélange, avec une pompe centrifuge.

— L'hypochlorite réagit chimiquement avec les matières organiques du substrat.

— Les germes sont détruits très rapidement.

Les concentrations nécessaires de chlore actif sont environ dix fois plus faibles que dans la Javellisation.

La réaction de l'hypochlorite sur les matières organiques provoquerait, en présence de lumière solaire, des « radiations abiotiques ». A l'appui de cette théorie, on cite l'expérience des « tubes de quartz », qui montre une action bactéricide sans contact chimique, en plongeant dans une solution de chlore actif des tubes de quartz mince, contenant une émulsion bactérienne vivante.

PILLEMENTS et TECHOUEYRES trouvent, pour un sewage traité par 1 décimilligramme par litre, un pourcentage de destruction de 11 % sans agitation et de 66 % avec agitation. Pour 1 milligramme, ces chiffres passent respectivement à 26 et 83 %.

On doit dire cependant :

— Que l'expérience des tubes de quartz n'a pu être reconduite avec succès par de nombreux auteurs.

— Que l'influence des radiations solaires ou celle de « radiations abiotiques », sont loin d'être prouvées. Si, pour faciliter l'action de la lumière, on recommande de ne traiter que des eaux parfaitement limpides et pauvres en matières

[11] TECHOUEYRES et PILLEMENTS. — Bull. Acad. de Méd. Paris, 97 : 385-388, 22 mars 1927.

organiques, comment expliquer le succès relatif de cette méthode sur le sewage qui ne présente jamais aucune de ces qualités.

Le procédé est pourtant réellement efficace. Si l'on écarte certaines des spéculations précédentes, il apparaît que l'originalité de la méthode repose sur une agitation très énergique.

Cette agitation provoque non seulement le contact intime du chlore actif, mais encore une forte aération. Beaucoup d'auteurs lui attribuent une action spécifiquement synergique du chlore actif.

PROCÉDÉS BERGE ET CALVERT-DAVIES.

Ces deux méthodes emploient le peroxyde de chlore, obtenu dans le premier cas par action de l'acide sulfurique et dans le second par l'acide oxalique, sur le chlorate de soude.

Le produit de réaction initial serait l'anhydride hypochloreux, photosensible, qui se décompose en acide hypochloreux, chlore, oxygène et peroxyde de chlore.

PROCÉDÉ DUYK-HOWATSON.

Cette méthode fait agir simultanément un hypochlorite et du chlorure ferrique — ou du chlorure d'aluminium ferrugineux —. Il se produit un « collage » du mélange : les hydrates métalliques précipitent et il y a libération d'acide hypochloreaux. C'est le procédé dit « du Ferro-chlore ».

SALAS et KEMPNEY [12] notent que le potentiel d'oxydation et l'action bactéricide du peroxyde de chlore, sont plus faibles que ceux du chlore libre. Toutefois, on éviterait les odeurs et saveurs désagréables des chloro-phénols qui se forment au contact du goudron des joints de conduites.

MOUNSEY et HAGAR [13] montrent qu'à pH élevé, le peroxyde laisse moins de chlore résiduel que le chlore libre.

[12] SALAS et KEMPNEY. — Ind. y Quim., 9 : 119-130, n° 9, Juin 1947.

[13] MOUNSEY et HAGAR. — J. Am. Waterwks Ass., 38 : 1051-1056, n° 4, Septembre 1946.



Afin d'avoir une idée de l'appareillage nécessaire à une station de chloration employant les hypochlorites, nous allons résumer le plan établi par la SOCIÉTÉ DES ETUDES, « *Eau et Assainissement* » [14], pour le traitement des eaux résiduaires du Sanatorium des Petites-Roches, dans l'Isère.

Les eaux sont évacuées directement dans l'Isère, après passage dans un décanteur muni d'un poste de stérilisation par l'eau de Javel.

A 100 mètres de la chambre de captage des eaux se trouve un bac d'arrivée, muni de deux décanteurs, avec chambre de régulation, regard d'évacuation des boues et appareil de chloration. Le canal d'arrivée des eaux est muni d'une grille qui arrête les corps flottants. Il faut prévoir pour les collecteurs, des réservoirs de chasse à siphons automatiques et des boîtes à graisse pouvant contenir le débit de deux heures.

On doit régulariser l'afflux de sewage dans le collecteur général, afin d'avoir un contact régulier avec le chlore. Les décanteurs doivent donc être assez grands pour contenir éventuellement un excédent de débit.

Celui-ci doit être constant à la sortie du décanteur. Dans la chambre de décantation, se trouve une conduite verticale mobile à frottement doux dans une gaine spéciale, presse-étoupe. Cette conduite est portée par un flotteur en cuivre argenté bruni et comporte, à sa partie supérieure, deux orifices opposés diamétralement, dont le débit est réglable.

L'eau de Javel est distribuée par un appareil spécial breveté « *Eau et Assainissement* ». Il y a deux javellisateurs dont un de secours, sur chaque décanteur. Le réservoir d'hypochlorite est en grès vernissé et les tubes en ébonite.

Il faut noter que cette réalisation ne prévoit pas de traitement biologique, ni contrôle de l'innocuité du sewage chloré.



L'assainissement du sewage par destruction chimique de la flore pathogène, présente certains avantages sur le traitement biologique.

[14] Société des Etudes : « *Eau et Assainissement* », 93, Rue des Roches, Paris.

L'action bactéricide est rapide. Par suite, l'encombrement de l'installation est réduit. La nocivité des pathogènes est combattue d'emblée, au lieu d'être soumise à l'action capricieuse du traitement biologique.

Cependant :

— Il ne faut pas espérer détruire les matières colloïdales ou insolubles, comme dans le traitement biologique.

— Il ne faut pas compter davantage sur la possibilité d'une association immédiate des deux traitements : ils sont parfaitement incompatibles l'un pour l'autre. Le chlore détruit les germes épurateurs, et les corps réducteurs issus de cette épuration, détruisent le chlore.

L'efficacité de la chloration est donc liée en partie à la précocité de son application.

L'association serait pourtant possible dans un cas particulier :

IMBEAUX [15] rapporte que RUDOLFS, CHAMBERLIN et LACY, chimistes de l'Agricultural Experiment Station of New-Jersey, ont recherché si le chlore peut améliorer les processus de sédimentation et de condensation des boues activées.

Il n'est pas question d'un traitement bactéricide.

Des résultats « complexes et peu encourageants » obtenus par ces auteurs, il faut retenir que le chlore améliore sensiblement le rythme de ces processus, mais l'épuration biologique est ralentie. Il ne faut donc employer que de très faibles concentrations de chlore, et seulement sur les boues activées dites « pauvres », c'est-à-dire trop fluides et diluées.

Cette action n'apparaît d'ailleurs pas spécifique du chlore, puisque l'acide sulfurique donne le même résultat. Par contre, le ralentissement de l'épuration est bien dû, lui, à l'action bactéricide du chlore.

[15] IMBEAUX. — Rev. d'Hyg., 58 : 206-207, Mars 1936.

CHAPITRE III

CARACTERES PHYSIQUES ET CHIMIQUES DU SEWAGE

Avant d'aborder la question de la chloration des eaux résiduaires, il n'est pas sans intérêt de préciser leurs caractères physiques et chimiques. Ceux-ci nous permettent, en effet, de prévoir dans une certaine mesure, le comportement du chlore actif.

Du point de vue physique, le sewage se présente en général comme un liquide fluide, de couleur variable, mais ordinairement gris-noirâtre. Après sédimentation, il est toujours plus ou moins coloré et opalescent. Il possède une odeur particulière et il est toujours chargé de matières en suspension.

LEROUX [16] trouve dans le sewage « homogénéisé et filtré », 12 mg. % de carbone, 14 mg. % d'azote aminé et 5 mg. % d'azote organique. Cette analyse nous donne peu de renseignements. Il est préférable de connaître la nature des composés organiques et minéraux que l'on y rencontre.

Par définition, le sewage peut tout contenir. Il y a cependant un certain nombre de corps dont la présence habituelle explique les réactions chimiques qui peuvent se produire au contact du chlore actif.

**

Quels sont ces divers constituants ?

— Les graisses et savons, proviennent des eaux de cuisine, vaisselle, lavage, communément appelées « eaux grasses ». Ces corps sont abondants dans les eaux résiduaires d'abattoirs.

[16] LEROUX. — Rev. d'Hyg., 55 : 265-280, Avril 1933.

Lorsqu'ils sont en trop grande quantité, leur rejet est interdit : ils engorgent les canalisations et colmatent les champs d'épandage. On peut les recueillir dans des « boîtes à graisses », et on les récupère parfois à des fins industrielles.

On a proposé de relarguer les eaux industrielles d'industries lainières, au moyen de 2 % de chlorure de chaux. La méthode résout à la fois le traitement bactéricide et la récupération des matières grasses, mais n'est rentable que dans ce cas particulier et implique une déchloration.

L'action des corps gras sur le chlore, se conçoit de deux façons :

— Le chlore actif peut être « consommé » par les doubles liaisons éthyléniques. Cependant, en l'absence de catalyseur, cette réaction est improbable à la température ordinaire.

— Les graisses peuvent enrober des particules solides et entraver la pénétration du chlore. Les savons, en réduisant la tension superficielle, peuvent avoir l'effet inverse.

— Les glucides sont représentés par divers déchets alimentaires ou non, plus ou moins hydrolysés et solubles : cellulose, amidon, dextrine, glucose, lactose... En dépit du pouvoir réducteurs de certains, ils sont peu aptes à « consommer » le chlore, à la température ordinaire.

Par contre, ils sont très fermentescibles et donnent naissance à des acides et à des gaz.

*
**

— Les matières organiques azotées sont représentées par :

— Des protéines entières : sérum-albumine, sero-globuline, myosine, caséine, fibrine, hémoglobine, nucléoprotéines.

Des protides dégradés : polypeptides, peptones, acides aminés.

— Des corps dégradés, d'origine urinaire ou fécale : acide urique, purines, créatinine, indole, scatole, acides nucléiques, pigments et sels biliaires, urée.

Tous ces corps contiennent :

- de l'azote aminé.

- De l'azote hétérocyclique.

- Des noyaux aromatiques, tryptophane, phénylalanine, tyrosine.

Les noyaux aromatiques peuvent en général consommer le chlore à froid. Cette réaction se produit en présence de catalyseurs appropriés, appelés « porteurs de chlore », et qui sont en général des chlorures de métaux plurivalents : fer, antimoine, mercure, aluminium, arsenic. La présence de traces de certains de ceux-ci est probable, dans le sewage.

PFEIFFER et WIZINGER [17] admettent la formation d'un sel intermédiaire instable dont le cation est formé par ce noyau, porteur d'une charge positive. Ce sel est instable et se transforme aussitôt en dérivé substitué classique.

En définitive, le fait essentiel de la « consommation » de chlore est le transfert de son pouvoir oxydant sur un noyau aromatique.

Cette réaction est stable et irréversible dans les conditions normales. Si l'on se souvient que les chlorophénols ne sont réduits qu'à chaud et par la poudre de zinc, il semble difficile d'admettre que les protides puissent en faire autant, à froid. En bref, le chlore « consommé » semble perdu pour l'action bactéricide en temps qu'oxydant, mais il est possible que le protide chloré agisse par l'ensemble de la molécule.

L'ammoniaque libre et les sels d'ammonium (carbonate surtout), ne font pas partie, en principe, du sewage « frais ». Ils apparaissent en plus ou moins grande abondance au cours des fermentations anaérobies de l'urée et des protides.

IMBEAUX et CHAPIN [10] notent que le comportement du chlore à leur égard est fonction du pH :

- A pH 8.5 et avec peu de chlore : formation de monochloramine.

- De pH 4.4 à 5, avec une quantité moyenne de chlore actif : di-chloramine.

- A pH inférieur à 4.4 : tri-chloramine.

[17] D'après KARRER : Traité de Chimie Organique.

La mono et la di-chloramine sont relativement stables, bien que leur réaction de formation ne soit pas exactement réversible et que l'alcalinisation fasse disparaître une certaine quantité de pouvoir oxydant. Par contre, la tri-chloramine est parfaitement instable et se décompose aussitôt, avec dégagement d'azote.

PALIN et LE STRAT [18] notent des faits analogues et se basent sur le point exact de décomposition de cette trichloramine pour effectuer une chloration rationnelle. C'est la chloration au point de décomposition ou « Break point ». L'« Ammonia-Chlorine treatment », employé par GERSTEIN et BAYLISS [10] à Chicago, utilise la même réaction pour faire disparaître l'excès de chlore dans les approvisionnements d'eau de consommation.

DAKIN, DUNHAM et COHEN [19] attribuent aux liaisons peptidiques des protides un rôle essentiel dans la formation de dérivés à chlore labile. L'intérêt de ceux-ci réside dans leur pouvoir bactéricide, d'ailleurs plus faible que celui du chlore libre.

L'urée se trouve dans le sewage à des concentrations très variables. LEROUX [16] en trouve 150 à 200 mg./litre. Nos chiffres personnels, établis sur un sewage d'hôpital, sont plus modestes : 50 à 70 mg./litre, en moyenne.

Nous savons que les hypochlorites détruisent l'urée. Par contre, selon WETTE, [20] le pouvoir de consommation de l'urée en milieu acide ou neutre, est très faible, à froid.

Cependant, l'ammoniaque ou plutôt les sels d'ammonium, consomment le chlore en milieu acide, puisque la trichloramine se décompose spontanément à pH 4.4. Comme le microcoque de l'urée décompose l'urée en carbonate d'ammonium au cours de la fermentation anaérobie, on voit que celle-ci tend à augmenter la consommation de chlore et par suite, à réduire la quantité disponible pour la stérilisation.

[18] PALIN. — J. Inst. Sanit. Eng., 44 : 98-129, n° 2 et 3, Juillet 1941.

[19] DAKIN et DUNHAM. — Manuel des antiseptiques. Vigot édit. 1916.

[20] WETTE. — Arch. f. Hyg., 99 : 143-157, 1928.



Les eaux résiduaires contiennent aussi, en quantités variables, divers ions minéraux dont certains peuvent jouer un rôle de catalyseur dans les réactions chimiques de la chloration, ou même favoriser la croissance de tel ou tel germe. On trouve les cations : calcium, potassium, fer, aluminium, manganèse; les anions : carbonate, sulfate, phosphate, chlorure, sulfure.

L'oxygène est toujours présent à l'origine dans le sewage. Il disparaît rapidement au cours des stades précédant immédiatement la fermentation anaérobie. Sa vitesse de disparition est en rapport avec la plus ou moins grande quantité de germes aérobies, et sert parfois de test de contrôle de l'épuration biologique ou chimique.

Du point de vue de l'équilibre acido-basique, le sewage se trouve en général à un pH compris entre 6.8 et 7.4. Il va de soi que ces chiffres n'ont rien d'absolu : ils ne sont valables que pour le sewage non fermenté.

Selon CAMBIER [1] les eaux résiduaires industrielles seraient souvent acides, ce qui entrave beaucoup l'épuration biologique. Il en serait aussi de même des eaux résiduaires d'abattoirs.

CHAPITRE IV

DOSAGE DU CHLORE ACTIF

Avant toute expérimentation avec le chlore actif, il nous faut choisir ou mettre au point les méthodes de dosage qui conviennent le mieux aux recherches que nous allons entreprendre.

Nous allons tout d'abord étudier l'action chimique du chlore sur les matières organiques. Pour contrôler avec précision la cinétique de l'action oxydante, il nous semble opportun d'employer des concentrations de chlore relativement élevées, permettant un dosage volumétrique de technique éprouvée.

Les recherches portant sur l'action bactéricide, nécessitent des concentrations de chlore beaucoup plus faibles, pour lesquelles un dosage volumétrique n'est pas possible, en général. Il nous faut recourir à des dosages colorimétriques dont la sensibilité est plus grande.



Pour éviter autant que possible l'interférence de corps étrangers, nous emploierons le chlore sous forme de solution aqueuse préparée extemporanément.

Cette eau de chlore est ensuite titrée et diluée à la concentration voulue.

Le véhicule de dilution sera l'eau distillée, l'eau physiologique ou une solution tampon. Les formules de tampons contenant des substances organiques sont exclues, en raison d'une réaction possible avec le chlore actif. Nous emploierons surtout les solutions aux phosphates de SOERENSEN, et celles de ROBINSON et BRITTON.

Quelles sont les formes du chlore actif, en solution aqueuse ?

Le chlore moléculaire réagit sur l'eau, suivant la formule :



L'acide hypochloreux est lui-même ionisé suivant la formule :



Ces deux réactions sont équilibrées et réversibles. Toute augmentation de l'acidité ionique, augmente aussi les concentrations relatives de l'acide hypochloreux et du chlore moléculaire, aux dépens des ions hypochlorites.

En milieu concentré et de pH élevé, on peut aussi prévoir l'apparition d'hypochlorite non ionisé.

En définitive, nous avons 4 formes dont chacune prédomine suivant le pH :

- Le chlore moléculaire Cl_2 .
- L'acide hypochloreux ClOH .
- Les ions hypochlorite ClO^- .
- L'hypochlorite ClO-M .

*
**

METHODES DE DOSAGE-COLORIMETRIQUES.

Les méthodes colorimétriques sont en général d'une très grande sensibilité. Les unes emploient le benzidine, les autres l'orthotolidine.

La benzidine.

Cette méthode utilise la coloration de la benzidine en présence de chlore actif en solution aqueuse. Cette coloration est bleue en milieu neutre, alcalin ou acétique, jaune-orangée en milieu acide minéral.

Il faut des concentrations de chlore faibles : moins de

2 mg./litre, en moyenne. La coloration, assez spécifique est due à la forme quinonique d'un dérivé d'oxydation de la benzidine.

Elle est malheureusement très instable à la lumière, surtout en milieu alcalin, un peu moins en milieu acide. Elle disparaît également en présence de matières organiques et de substances réductrices.

On ne peut guère, en définitive, en tirer d'indication sérieuse pour un dosage de chlore actif. Cette réaction est cependant très utile pour une recherche qualitative, car elle est un peu plus sensible que celle de l'iodeure d'amidon.

L'ortholidine.

De formule voisine de la précédente, l'orthotolidine donne aussi en milieu acide, une coloration jaune-orangé, ou jaune-verdâtre, suivant la concentration de chlore actif. Celle-ci, doit être comprise entre 0.2 et 2 décimilligrammes par litre. La coloration est stable. On emploie une solution d'orthotolidine à 0.5 % dans l'acide chlorhydrique à 5 %.

On ajoute 0.5 cc. de réactif à 100 cc. de solution de chlore.

La méthode originale de DIENERT, compare la coloration obtenue avec une gamme préparée au moyen de bichromate de potassium et de sulfate de cuivre. Par suite de la difficulté de se procurer des produits suffisamment purs, M^{me} MIGETTE [21] du laboratoire de contrôle des eaux de la ville de Lyon propose une gamme utilisant la coloration du p-nitrophénol en milieu alcalin.

Actuellement on se sert avec avantage d'un colorimètre du type « Lovibond », avec des disques spécialement étalonnés.

Autres méthodes colorimétriques.

GILCRÉAS [22] propose une technique combinant l'emploi de l'arsénite de sodium à celui de l'orthotolidine. Celle-ci

[21] MIGETTE. — Rev. d'Hyg., 59 : n° 3, Mars 1937.

[22] GILCREAS. — Wat. a. Sew. Wks., 95 : 159-160, n° 4, Avril 1948.

réagirait immédiatement avec le chlore libre et plus lentement avec le chlore labile combiné aux matières azotées. Par contre, l'arsénite se combinerait aussi rapidement avec l'un qu'avec l'autre.

Dans ces conditions, si l'on ajoute de l'arsénite de sodium aussitôt après l'orthotolidine, la coloration correspondra seulement au chlore libre. Par différence avec un essai sans arsénite, on évalue le chlore labile. Enfin, la coloration de base, due à d'autres substances, est évaluée en faisant agir l'orthotolidine après l'arsénite de sodium.

Signalons pour mémoire que DIENERT [23] emploie également une technique colorimétrique avec l'a-naphtoflavone.

GAD et PRIEGNITZ [24] emploient la décoloration d'une solution titrée de rouge de méthyle.

Il ressort de l'exposé précédent, que le dosage à l'orthotolidine, couramment employé dans les laboratoires de surveillance des eaux, représente certainement la meilleure méthode colorimétrique.

L'eau dans laquelle on effectue ce dosage, doit être parfaitement limpide et exempte de nitrites, d'ammoniaque et de matières organiques, sous peine de retirer toute précision à la mesure. Ces diverses conditions rendent très aléatoires son application au sewage.

LES METHODES DE DOSAGE VOLUMETRIQUES.

Parmi les méthodes volumétriques, nous parlerons surtout de celle de BUNSEN, et des raisons qui nous la font préférer.

Deux réactions fondamentales sont à la base des méthodes volumétriques :

— Oxydation de l'arsenic trivalent en arsenic pentavalent :
MOHR, GAY-LUSSAC, PENOT.



Il apparaît de l'acide chlorhydrique et on ne peut contrô-

[23] DIENERT, d'après MIGETTE. — Rev. d'Hyg., 59 : n° 3, Mars 1937.

[24] GAD et PRIEGNITZ. — Gesund. Ingen., 68 : 174-176, n° 6, 1948.

ler le chlore à pH constant. La méthode de PENOT, neutralise cette acidité avec le bicarbonate de sodium, mais ne respecte pas davantage le pH du substrat.

Titration par l'hyposulfite de soude, de l'iode libéré par le chlore actif : méthode de BUNSEN.

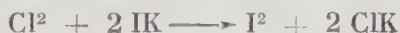


L'iodure se retrouve dans son état initial. Il joue d'ailleurs, moins le rôle de catalyseur que celui de régulateur. En son absence, la réaction du chlore sur l'hyposulfite conduit par une oxydation mal déterminée, aux stades sulfites et sulfate.

On est donc en droit de parler d'un dosage par le couple iodure-hyposulfite.

Comment les diverses formes du chlore actif réagissent-elles sur l'iodure ?

— Le chlore moléculaire déplace l'iode :



L'acide hypochloreux agit de même, en « consommant » d'ailleurs l'acidité provenant de l'hydrolyse de Cl_2 .



L'ion hypochlorite, comme l'hypochlorite, ne déplacent pas l'iode en l'absence d'acidité ionique.

Nous constatons donc que la méthode iodométrique présente non seulement l'avantage de ne pas introduire d'acidité nouvelle dans le substrat, mais encore, de ne doser, à pH déterminé, que le chlore moléculaire et l'acide hypochloreux. Ces deux corps sont seuls, en effet, à posséder une action oxydante « immédiate », puisqu'ils déplacent l'iode, sans acidification.

On sait par ailleurs que le potentiel d'oxydation d'une solution aqueuse de chlore actif, diminue lorsque le pH augmente. Les variations de ce potentiel, sont donc parallèles aux variations des concentrations relatives du chlore libre et de l'acide hypochloreux.

Par conséquent, le dosage iodométrique, permet de suivre ce potentiel au cours de la chloration.

Nous allons donc employer une méthode peu différente

de celle de BUNSEN. Sauf indication contraire, nous n'acidifions pas le substrat et nous nous bornons à doser le chlore « immédiatement actif ».

Un inconvénient majeur est représenté par le risque de doser simultanément les chlorites et chlorates. Si on n'acidifie pas, ce risque n'est pas à craindre. De plus, les solutions de chlore employées sont extemporanées.

EVALUATION DU CHLORE FIXE LABILE.

Nous avons déjà parlé de la possibilité, pour une substance organique azotée, de donner des dérivés à chlore labile, par réaction équilibrée avec le chlore libre.

Nous allons rechercher, si une matière organique azotée comme la peptone, en solution aqueuse à 0,5 %, traitée par le chlore libre, fixe du chlore labile.

On se souvient que les techniques de dosage des « chloramines » du commerce, prévoient l'acidification du substrat, pour libérer tout le chlore actif.

Nous avons traité 2 cc. de solution de peptone à 0,5 % par 2 cc. d'eau de chlore saturée, pendant 1 heure. Ensuite, après avoir exactement neutralisé le chlore résiduel par le couple iode-hyposulfite, nous ajoutons 1 cc. d'acide chlorhydrique.

Nous ne constatons aucune apparition nouvelle d'iode.

On peut donc penser :

- Qu'il n'y a pas eu de formation de chlore labile;
- Que le chlore labile n'est pas dissocié, dans les conditions de l'expérience;
- Que le chlore labile est neutralisé en même temps que le chlore résiduel.

Cette dernière hypothèse est la plus vraisemblable, ainsi qu'il ressort de l'expérience suivante :

On dose, par iodométrie, sans acidifier, le chlore actif d'une prise d'essai de 5 cc. de solution aqueuse au 1/1000 de « Chloramine T ». Le pH de la solution est de 5,65.

Nous retrouvons l'équivalent de 8,75 cc. d'hyposulfite N/100.

On ajoute alors 1 cc. d'acide acétique ou chlorhydrique. L'iode qui apparaît alors équivaut seulement à 0,20 cc. d'hypo-sulfite », N/100. Nous voyons donc que le « couple iodure-hypo-sulfite », révèle la presque totalité du chlore labile.

En nous inspirant de l'idée de GILCRÉAS, qui fait agir un couple de réactifs d'affinités différentes pour le chlore libre et pour le chlore labile, nous avons recherché un réactif « consommant » le chlore libre, sans toucher au chlore labile.

Sachant que les noyaux aromatiques ont une affinité certaine pour les halogènes, nous avons pensé que celle-ci, fonction du potentiel d'oxydation, peut être plus forte pour le chlore libre que pour le chlore labile, dont le potentiel est moins élevé.

Après divers essais, nous avons choisi la phénolphthaléine en solution saturée dans l'alcool à 95°. Nous avons réalisé, après quelques tâtonnements, les deux expériences suivantes :

Expérience I.

On introduit dans un tube à essais, 2 cc. d'eau distillée. On ajoute 2 cc. de solution de chlore extemporanée, équivalent à 18.6 cc. d'hypo-sulfite N/100. Après 5 minutes de contact, on ajoute successivement, 3 cc. de solution de phénolphthaléine, 5 cc. de solution aqueuse saturée d'acétate de sodium et 1 cc. de réactif ioduro-amidonné.

Nous ne constatons aucune libération d'iode.

Notons que la phénolphthaléine tend à précipiter, lorsqu'on l'ajoute aux 4 cc. du mélange initial, mais le titre alcoolique final est assez élevé pour qu'il y ait redissolution. Après addition de la solution d'acétate de sodium, le mélange devient laiteux ce qui n'est pas gênant pour apprécier éventuellement une teinte bleue.

Expérience II.

On opère la même expérience, en remplaçant les 2 cc. d'eau distillée par 2 cc. de peptone « Roche » à 0,5 % dans l'eau distillée.

Cette fois, il y a libération d'iode, en quantité abondante : le dosage accuse 8.6 cc. d'hypo-sulfite N/100.

La première expérience montre que le chlore libre, seul

présent dans la prise d'essai, est « consommé » en totalité. On remarque d'ailleurs que la coloration du précipité qui tend à se former dans les premiers instants est jaunâtre, alors qu'elle est parfaitement blanche avec un témoin d'eau distillée.

On emploie l'acétate de sodium dans le but de neutraliser l'acidité qui apparaît au cours de la réaction :



Il est probable, que l'acide chlorhydrique limite la « consommation » du chlore. En tous cas, si l'on ne se sert pas d'acétate de sodium, on retrouve encore environ 10 % de chlore libre dans le mélange. Si on neutralise par la soude N/10, jusqu'à virage au rose léger, on observe le même résultat qu'avec l'acétate de sodium.

Cependant, l'emploi d'acétate de sodium nous semble plus judicieux : il n'y a aucun temps mort entre l'addition des divers réactifs.

Ce dernier point n'est pas sans importance. Le chlore labile n'est pas indéfiniment inerte vis-à-vis de la phénolphthaléine. Il tend à se dissocier lorsque l'équilibre qui le lie au chlore libre est rompu. Cependant, la vitesse de dissociation doit être notablement plus faible que la vitesse de consommation : s'il en était autrement, on ne pourrait mettre le chlore labile en évidence par cette méthode.

Nous avons déjà dit que l'addition successive de la solution de phénolphthaléine, de la solution d'acétate de sodium et du réactif ioduro-amidoné, doit se faire sans interruption.

Cependant, si on retarde l'addition du réactif ioduro-amidoné de moins de 15 à 20 secondes, on ne note pas de différence entre le chiffre d'hyposulfite trouvé et celui que l'on observe après addition immédiate des divers réactifs.

Ce délai est largement suffisant pour couvrir les opérations précédentes, mais risque de ne plus l'être si l'on veut neutraliser par la soude.

Il est donc préférable d'employer l'acétate de sodium : le substrat prend un aspect blanc laiteux, qui ne gêne absolument pas le dosage iodométrique.

La question qui se pose évidemment est de savoir à quoi nous sommes redevable de ce phénomène.

Nous avons noté que le « test à la phthaléine » est positif

pour tous les protides et d'une façon générale pour tous les corps organiques contenant de l'azote animé. Aucun glucide ou lipide ne nous a jamais donné une telle réaction.

Par ailleurs :

— Une solution de $\text{SO}^4(\text{NH}^4)^2$, au 1/1000, donne une réaction fortement positive. L'ion sulfate est mis hors de cause par un témoin de sulfate de soude.

— Une solution d'acétanilide au 1/1000, donne un test positif; une solution de méthylacétanilide, donne un test négatif. En l'occurrence, il semble que le blocage de l'azote, empêche la formation de chlore labile.

On est amené naturellement à conclure que l'azote des matières organiques est responsable de la formation de chlore labile, et plus particulièrement l'azote aminé primaire et l'azote amidé. Les liaisons peptidiques des protides, qui sont, somme toute, des amino-amides, possédant encore une fonction libre, doivent certainement jouer un rôle important dans ces réactions.

En résumé, les techniques auxquelles nous allons recourir s'établissent ainsi :

Dans 2 tubes à essais, on mélange 2 cc. de solution de chlore à 2 cc. de solution de matière organique ou de sewage. Après un temps de contact déterminé, on opère ainsi :

— Dans l'un des tubes, on ajoute 1 cc. de réactif ioduro-amidonné, et on titre par l'hyposulfite N/100.

On a le chlore résiduel TOTAL.

On évalue le chlore « consommé » par différence avec un témoin.

— Dans l'autre tube, on ajoute successivement :

3 cc. de solution saturée de phénolphtaléine dans l'alcool à 95°.

5 cc. de solution aqueuse saturée d'acétate de soude.

1 cc. de réactif ioduro-amidonné.

On titre par l'hyposulfite N/100 le chlore LABILE.

Nous obtenons ainsi, dans des conditions tout à fait comparables, le chlore fixé irréversiblement et le chlore fixé labile, pour une matière organique déterminée.

CHAPITRE V

ACTION DU CHLORE SUR LES MATIERES ORGANIQUES

Au cours de ce chapitre, nous allons étudier successivement le cas des principaux facteurs qui régissent l'action du chlore sur les matières organiques. Nous verrons notamment :

- L'influence de la température;
- L'influence de la durée de réaction;
- L'influence des masses actives;
- L'influence du pH du substrat.

Nous nous attacherons tout particulièrement à l'étude de l'action du chlore sur deux matières organiques azotées : la peptone et l'urée.

— Par convention, nous admettrons qu'une peptone comme la peptone « Roche », représente un modèle des polypeptides plus ou moins complexes qui se trouvent dans le sewage. Le choix d'une peptone définie nous est dicté par la nécessité d'employer un produit identique à lui-même, au cours de nos expériences. Bien que la formule chimique exacte de la peptone soit mal connue, nous pouvons espérer obtenir des résultats homogènes en employant un produit d'origine bien déterminée.

— L'urée représente un pourcentage important de l'azote total du sewage. Comme sa formule chimique est bien connue, nous pourrions étudier quantitativement les réactions susceptibles de se produire.

Enfin, nous compléterons cette étude en recherchant les modalités de l'action chimique du chlore sur le sewage, après en avoir défini le pH, la teneur en azote total et la teneur en urée.



Nombre de matières organiques « consomment » le chlore actif. Ce phénomène nous fournit souvent des renseignements précieux sur le degré de pollution d'une eau.

Divers auteurs, parmi lesquels BRUNS, EGGER, VOLLMAR, OLSEWSKI [25], admettent que les matières organiques inertes des eaux résiduaires, doivent se saturer de chlore avant que l'excès de celui-ci puisse agir comme bactéricide. Cependant RUDOLFS et ZIEMBA [26] montrent qu'un pourcentage important des germes du sewage est détruit, alors même qu'on n'ajoute pas la totalité du chlore que peut « consommer » le substrat. Il semble donc que nous soyons plus près de la vérité, en admettant que l'ensemble des matières organiques présentes, inertes ou vivantes, se partagent le chlore actif suivant leurs affinités respectives.

Influence de la température.

Les techniques de chloration des matières organiques reposent sur deux principes :

On peut employer, soit beaucoup de chlore, à chaud, soit peu de chlore, à froid.

Les quantités consommées, varient considérablement avec la température. A chaud, la molécule organique finit par être complètement détruite : c'est le cas de la minéralisation d'OGIER.

La technique d'ELMANOWITSCH et ZALESKI [25], modifiée par FROBOESE, fait agir, à l'ébullition, un excès connu de chlore. Sans qu'il soit possible d'affirmer une destruction complète des matières organiques, on obtient cependant, en dosant le chlore résiduel, un test global d'oxydation.

Les chiffres obtenus sont tout à fait comparables à ceux qu'on obtient par la technique de KUBEL et TIEMANN [25]. Cette dernière technique consiste à établir un test d'oxydation au moyen du permanganate de potasse. La technique de FROBOESE, complète même celle-ci, dans certains cas où elle se trouve en défaut : cas des produits de lyse du blanc d'œuf, par exem-

[25] D'après WETTE. — Arch. f. Hyg., 99 : 143-157, 1928.

[26] RUDOLFS et ZIEMBA. — J. bact., 27 : 419-442, Avril 1934.

ple. De même, une souillure urinaire ou fécale, affecte plus tôt les chiffres de chlore que ceux de permanganate.

Si ces méthodes nous donnent des renseignements sur le degré de pollution d'une eau, nous n'avons pratiquement aucune indication concernant la quantité de chlore actif qu'il est nécessaire d'employer comme bactéricide, au cours du traitement des eaux résiduaires ou des eaux de consommation.

Les méthodes qui font agir peu de chlore, à froid, présentent certainement plus d'intérêt, à ce point de vue. Dans ce cas, l'action du chlore est infiniment moins brutale, et n'aboutit jamais à la destruction des molécules organiques.

BRUNS [25], fait agir, à froid, l'équivalent de 1 à 2 mg. de chlore actif, dont il titre ensuite l'excès.

OLSEWSKI [25], fait agir encore moins de chlore : un nombre croissant de gouttes, dont chacun correspond à 1/100 de milligramme de chlore actif, est ajouté à une série de prises d'essai. Après 5 minutes de contact, on recherche la première réaction positive, au moyen d'acétate de benzidine.

RUDOLFS et ZIEMBA [26] définissent la « *chlorine demand* » comme étant la plus petite quantité de chlore qu'il faut ajouter à un volume défini de sewage pour qu'il en reste au moins une trace après 10 minutes de contact.

Le « test de chlore » ou « test-gamme », repose sur un principe similaire. On ajoute des quantités de chlore croissantes à 5 prises d'essai de sewage ou d'eau, de 1 litre chacune. On recherche la réaction limite, après 30 minutes de contact.



Influence de la durée de réaction.

Nous allons étudier expérimentalement ce phénomène sur une solution de peptone. Nous opérerons toujours à la température du laboratoire.

Nous allons donc nous efforcer de définir la cinétique des réactions chimiques qui se produisent entre le chlore actif et la peptone, en contrôlant le chlore résiduel à diverses phases du phénomène.

On prépare tout d'abord deux séries de 8 tubes à essais, contenant chacun 2 cc. d'une solution à 0.5 % de peptone « Roche », dans le soluté physiologique de chlorure de sodium à 8 pour 1000. On prépare simultanément une troisième série de 8 tubes contenant, de même, 2 cc. de solution physiologique, et servant de témoins.

Chaque tube reçoit alors 2 cc. d'eau de chlore fraîchement préparée. Ensuite, à intervalles réguliers, on effectue trois dosages :

— Le dosage du chlore actif des témoins, par voie iodométrique.

— Le dosage du chlore résiduel total dans une prise d'essai de peptone, également par voie iodométrique.

— Le dosage du chlore fixé labile, contenu dans une prise d'essai identique à la précédente, par le test à la phtaléine.

Ces trois dosages sont effectués simultanément, pour autant que cela est possible. En fait, comme on peut les réaliser rapidement, on est en droit de les rapporter au même ordre chronologique.

On opère tout d'abord à l'instant 0, c'est-à-dire immédiatement après addition du chlore. Ensuite, on répète les mêmes dosages après 5, 10, 15, 20, 30, 45 et 60 minutes de contact entre la peptone et le chlore.

Les données du tableau suivant, indiquent les volumes d'hyposulfite de sodium N/100, en centimètres-cube, nécessaires pour neutraliser l'iode libéré. Un centimètre-cube d'hyposulfite N/100, équivaut à 0.355 mg. de chlore actif.

<i>Temps, en minutes :</i>	0	5	10	15	20	30	45	60
	<i>Chlore, en équivalent d'hyposulfite N/100 (cc.)</i>							
<i>Témoins</i>	16.10	16.15	16.10	16.05	16.00	15.95	16.00	15.95
<i>Chlore résiduel total.</i>	15.50	10.75	9.45	8.90	8.50	8.00	7.75	7.50
<i>Chlore fixé, stable ..</i>	0.60	5.40	6.65	7.15	7.40	7.95	8.25	8.45
<i>Chlore fixé, labile ..</i>	4.25	5.45	5.30	5.30	5.25	5.10	4.75	4.55

TABLEAU 1. — Influence de la durée de réaction sur les fixations de chlore, labiles et irréversibles.

Les chiffres de chlore fixé stable, correspondent à la différence entre les témoins et le chlore résiduel total.

Si nous établissons les courbes du chlore fixé stable et du chlore fixé labile (Fig. 1), en fonction du temps, nous constatons les faits suivants :

- La formation du chlore fixé labile est plus rapide que celle du chlore fixé stable, surtout au début de l'essai. Le premier dosage correspond à un temps de contact très bref : une seconde, au maximum, puisque le dosage suit immédiatement l'addition du chlore actif.

Quoiqu'il en soit, l'équilibre du chlore labile ne semble pas atteint avant 5 minutes environ. Ensuite, sa concentration reste stable pendant 10 minutes, à peu près, puis décroît lentement.

— La fixation irréversible faible à l'instant 0, augmente rapidement, au cours du premier quart d'heure de contact. Sa vitesse diminue ensuite lentement et devient à peu près nulle au bout d'une heure.

— Les témoins de chlore actif sont relativement stables pendant la durée de l'expérience.

Influence de la concentration du chlore actif.

L'expérience précédente, répétée avec diverses concentrations de chlore actif, fournit des courbes analogues. Nous allons donc voir, maintenant, dans quelle mesure, les variations de la concentration du chlore actif affectent la fixation stable et la fixation labile de notre solution de peptone.

Cette solution est à nouveau répartie, à raison de 2 cc., dans deux séries de 10 tubes. On prépare également une série témoin. D'autre part, nous effectuons une série de dilutions d'eau de chlore récente, allant de 1 à 10.

Deux cc. de chacune de ces solutions de chlore sont introduits dans un tube de chaque série.

Après un contact de 60 minutes, on dose le chlore actif des témoins, le chlore résiduel de la peptone et le chlore labile, comme dans l'expérience précédente et avec les mêmes

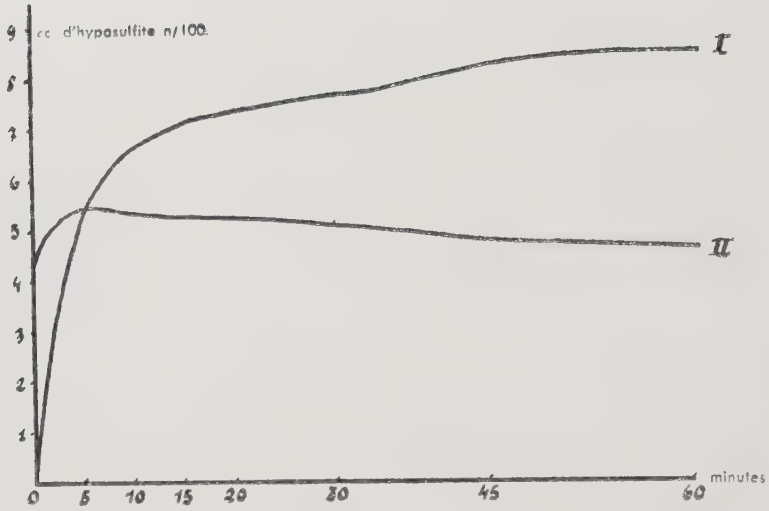


FIG. I. — Influence de la durée de contact :

I : Chlore fixé irréversiblement.

II : Chlore fixé labile.

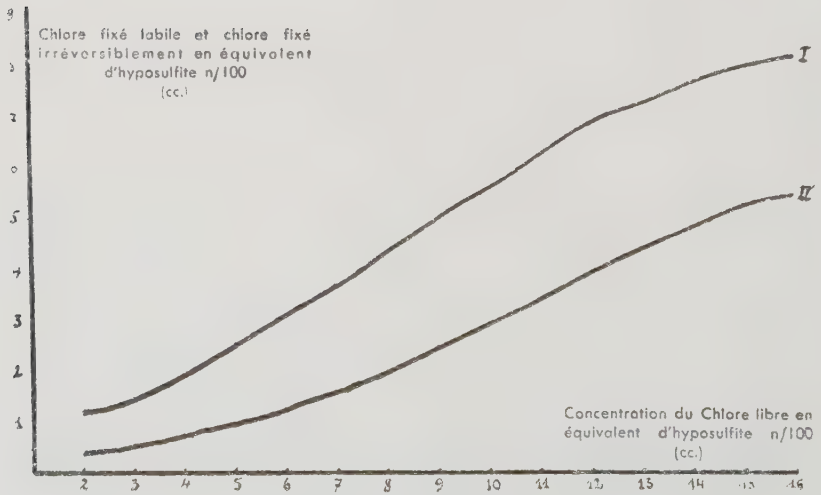


FIG. II. — Influence de la concentration du chlore libre.

I : Chlore fixé irréversiblement.

II : Chlore labile.

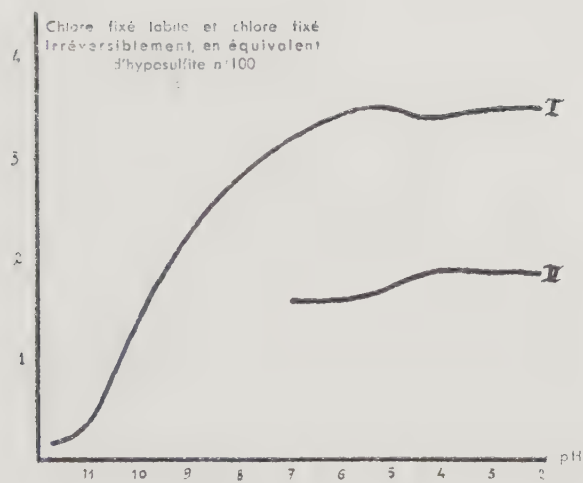


FIG. III. — Influence du pH du substrat :

I : Chlore fixé irréversiblement.

II : Chlore labile.

techniques. Les chiffres du tableau suivant indiquent toujours les volumes d'hyposulfite de soude N/100 en centimètres-cube, nécessaires pour neutraliser l'iode libéré.

<i>Témoins</i>	<i>Chlore, en équivalent d'hyposulfite N/100, en cc.</i>									
	1.80	3.55	5.10	6.65	8.25	9.80	11.30	13.10	15.00	16.50
<i>Chlore résiduel..</i>	0.65	1.85	2.50	3.25	3.75	4.30	4.70	5.90	7.00	8.30
<i>Chlore fixé stable</i>	1.15	1.70	2.60	3.40	4.50	5.50	6.60	7.20	8.00	8.20
<i>Chlore fixé labile</i>	0.45	0.65	1.00	1.50	2.10	2.85	3.55	4.50	5.30	5.30

TABLEAU 2. — *Influence de la durée de réaction sur les fixations labiles et irréversibles du chlore.*

Si nous établissons les deux courbes du chlore fixé stable et du chlore fixé labile (figure 2), en fonction de la concentration initiale du chlore libre, nous constatons que ces deux courbes tendent à devenir parallèles entre elles et avec l'axe des abscisses.

La formation de chlore labile apparaît donc équilibrée, ce qui n'est pas très surprenant, puisque nous savons déjà qu'elle est réversible.

La « consommation » du chlore actif par la peptone, se présente sous un aspect nettement plus complexe. Bien que cette réaction ne soit pas réversible dans les conditions de l'expérience, il semble cependant que nous ayons, pour chaque concentration de chlore actif, une sorte d'état d'équilibre. De plus, nous voyons qu'il existe un état de saturation qui marque une capacité totale de la peptone, dans les conditions de l'expérience. La plus faible concentration de chlore actif qui amène cet état de saturation, est caractéristique de la nature de la prise d'essai.

Nous avons vu par ailleurs que le « test de chlore », établit une autre caractéristique, basée sur une « consommation » juste égale à la concentration initiale du chlore actif. Cette dernière caractéristique est plus délicate à établir que la précédente, la réaction limite dépendant, en partie, de la nature du réactif servant à déceler le chlore résiduel.

Influence du pH du substrat.

Au cours de l'expérience suivante, nous allons rechercher dans quelle mesure l'acidité ou l'alcalinité du substrat peut affecter les phénomènes que nous étudions.

Nous allons donc réaliser une série de solutions de peptone « Roche », à 0.5 %, dans des substrats de pH croissants, et nous ferons agir le chlore en solution au même pH.

Une solution de peptone « Roche », à 5 %, est répartie à raison de 1 cc. dans une série de 10 tubes. Nous préparons 10 solutions tampon de la gamme de ROBINSON et BRITTON [27], de façon à avoir des valeurs du pH régulièrement croissantes, et nous ajoutons 9 cc. de chacune de ces solutions, aux 10 tubes de peptone. D'autre part, nous diluons une partie d'eau de chlore fraîche, dans trois parties de chaque solution tampon.

Nous établissons ensuite, trois séries de 10 tubes, contenant chacun 2 cc. de chaque solution de peptone, et nous ajoutons 2 cc. des solutions de chlore correspondantes.

Une quatrième série de 10 tubes, contient 2 cc. de chaque solution tampon et 2 cc. des solutions de chlore, et servira de témoin.

Compte tenu de la dilution au 1/10 pour la solution de peptone et au 1/4 de la solution de chlore, cette façon de procéder n'implique pas une dilution de plus de 7/40 de la solution tampon, dans le mélange de peptone et de chlore. On peut donc penser que la perturbation du pH reste faible, d'autant que ce qui importe surtout est la conservation de l'échelle de ses valeurs.

Quoiqu'il en soit, une des séries des tubes à peptone est réservée au contrôle du pH, au moyen du pH-mètre de Jouan.

Nous allons doser le chlore résiduel, le chlore labile et le chlore des témoins, après un contact de 60 minutes.

En ce qui concerne les témoins, il peut être intéressant de doser tout d'abord, le chlore « immédiatement » actif, donc, sans acidifier le substrat. Après avoir neutralisé exactement l'iode libéré dans ce premier temps, nous ajouterons donc 0.5 cc. d'acide acétique pur, afin de libérer et de doser le reste du chlore.

[27] D'après LOISELEUR : Techniques de laboratoire, Masson, édit. 1947.

Nous doserons le chlore résiduel de la peptone, en acidifiant immédiatement le substrat par 0.5 cc. d'acide acétique. Il importe d'ajouter l'iodure de potassium avant l'acide afin d'éviter tout contact de la peptone et du chlore, dans des conditions de pH autres que celles qui sont fixées par le protocole de l'expérience.

Nous devons signaler tout de suite, un fait bien prévisible : le test à la phtaléine se trouve en défaut pour les pH voisins ou supérieurs à la zone de virage de la phtaléine. Celle-ci se solubilise en partie, le milieu devient très coloré et le dosage iodométrique s'avère rapidement impossible.

Cette expérience nous fournit les données suivantes qui représentent toujours des centimètres cube d'hyposulfite de N/100.

pH du substrat..	2.10	2.80	4.30	5.29	6.50	7.31	8.58	9.63	11.10	11.80
<i>Chlore actif, exprimé en équivalent d'Hyposulfite N/100 (centimètres cube)</i>										
<i>Témoins :</i>										
1. Avant acidification	7.10	7.00	7.05	6.75	6.00	4.90	3.40	1.05	0.50	0,20
2. Après acidification	7.10	7.05	7.05	7.00	6.90	6.90	6.95	6.90	6.80	6.90
Chlore résiduel..	3.60	3.55	3.60	3.45	3.55	3.80	4.45	5.10	6.20	6.60
Chl. fixé stable.	3.50	3.50	3.40	3.55	3.55	3.10	2.50	1.80	0.60	0.30
Chl. fixé labile.	1.85	1.90	1.90	1.70	1.60	1.60				

TABLEAU 3. — Influence du pH du substrat, sur les formations de chlore labile et irréversible d'une solution de peptone, après 1 heure de contact.

Si l'on établit les diverses courbes correspondant à ces chiffres (figure 3), nous constatons que la courbe de fixation stable est en relations étroites avec celle du témoin, avant acidification. La « consommation » apparaît donc liée, en partie, à la concentration du chlore « immédiatement » actif, et, par voie de conséquence, au potentiel d'oxydation. Aux pH alcalins, le chlore ne se trouve plus libre, mais à l'état d'hypochlorite.

La courbe du chlore labile, bien qu'incomplète, montre

pourtant que l'équilibre de formation de ce dernier s'abaisse lorsque le pH augmente.

D'une façon générale, nous voyons qu'une augmentation du pH diminue à la fois le chlore fixé stable et le chlore fixé labile. Cette diminution semble bien en rapport avec celle du potentiel d'oxydo-réduction, et nous verrons également qu'il lui correspond une diminution du pouvoir bactéricide du chlore.

INFLUENCE DE LA CONCENTRATION DU CHLORE ACTIF SUR LA CONSOMMATION ET LA FORMATION DU CHLORE LABILE D'UNE SOLUTION D'UREE.

Le sewage contenant habituellement de l'urée, il peut être intéressant de rechercher comment celle-ci va se comporter au cours de la chloration. Nous allons donc faire agir des concentrations de chlore actif croissantes, sur une solution d'urée à 200 mg. par litre.

Nous répartissons 2 cc. de cette solution, dans trois séries de 10 tubes. Nous préparons également une série témoin avec de l'eau distillée. On effectue ensuite 10 dilutions d'eau de chlore concentrée et fraîchement préparée. Deux centimètres cube de chacune de ces dilutions sont introduits dans un tube de chaque série et dans un tube témoin.

On dose le chlore résiduel et le chlore labile des tubes d'urée, ainsi que les témoins, après 60 minutes de contact. La troisième série de tubes d'urée, nous sert à contrôler le pH.

Nous obtenons les résultats suivants :

<i>Témoins</i>	2.40	4.90	7.35	9.50	11.50	13.60	15.50	17.45	19.50	21.60
<i>pH du substrat</i> .	4.20	4.20	4.15	4.00	3.98	3.90	3.80	3.77	3.75	3.75
<i>Chlore actif, exprimé en équivalent d'hyposulfite N/100 (centimètres cube)</i>										
<i>Chlore résiduel</i> .	2.4	4.87	7.10	9.20	10.95	13.00	14.85	16.80	18.70	21.00
<i>Chl. fixé stable.</i>	0.	0.03	0.25	0.30	0.55	0.60	0.65	0.65	0.80	0.60
<i>Chl. fixé labile.</i>	0.85	1.24	1.95	2.35	2.50	2.50	2.60	2.65	2.65	2.65

TABLEAU 4. — *Comportement du chlore actif sur une solution d'urée.*

Il ressort tout d'abord de l'examen de ces chiffres, que le chiffre de chlore fixé irréversiblement est d'autant plus faible que la concentration initiale du chlore actif l'est elle-même. Il est probable que cette « consommation » est parfaitement négligeable pour les taux de chloration habituellement employés comme bactéricides. Nous savons par ailleurs que le chlore actif détruit l'urée en milieu alcalin, comme le fait d'ailleurs l'hypobromite de sodium. Le pH du mélange restant toujours dans la zone acide, il est peu probable que la « consommation » observée, soit due à une réaction du même ordre, d'autant que l'on observe pas le moindre dégagement gazeux au cours de l'expérience.

Par ailleurs, le test à la phtaléine accuse l'existence d'un dérivé à chlore labile. On connaît bien déjà la dichloro-urée, parfois employée comme agent de chloration en chimie organique. En admettant que les 4/10 de milligramme d'urée, présents dans nos tubes, soient complètement saturés sous forme de dichloro-urée, le chlore labile ainsi formé correspond théoriquement à 2,66 cc. d'hyposulfite N/100. Nous constatons, en effet, pour une concentration suffisante de chlore libre, une quantité de chlore labile très voisine de ce chiffre.

On peut en conclure :

— Que le chlore actif agit sur l'urée, en solution aqueuse de pH inférieur à 7.

— Que le dosage du chlore labile, à son point de saturation, montre que l'urée ne subit pas, dans nos conditions opératoires, d'attaque irréversible à laquelle on pourrait rapporter la « consommation » observée, au demeurant faible.

Nous serons ainsi amenés à rechercher si, du point de vue de l'action bactéricide, la chloro-urée présente un comportement particulier.

Il est en effet possible que les concentrations bactéricides « minima », au contact de quelques dizaines ou centaines de milligrammes d'urée, se manifestent surtout sous forme de chloro-urée.

Nous avons réalisé une expérience en tout point semblable, avec une solution de glycocolle au 1/1000. Sans qu'il soit nécessaire d'alourdir notre exposé avec des chiffres qui n'apporteraient pas d'éléments nouveaux, nous pouvons signaler

également un état de saturation du glycocolle, qui correspond à la formation d'un dérivé où le chlore fixé est labile.

En résumé, toutes ces expériences montrent que si l'action du chlore libre sur l'urée, en milieu légèrement acide, n'entraîne qu'une fixation stable hors de rapport avec les concentrations en présence, il y a cependant une réaction réversible, aboutissant à la formation d'un composé à chlore labile, sans perte réelle de pouvoir oxydant pour le mélange.



CHLORATION CHIMIQUE DU SEWAGE.

Nous avons déjà dit que les eaux résiduaires contiennent une certaine quantité d'urée et de matières protéiques. Ayant vu successivement le cas de la peptone et de l'urée et du glycocolle, il semble bien que le sewage doive se comporter comme un mélange des deux. Mais il nous appartient cependant de le vérifier.

Nous avons recueilli des échantillons de sewage « frais » dans le canal collecteur des eaux résiduaires de la Clinique des Maladies Contagieuses, à l'Hôpital de la Croix-Rousse.

Pour un chiffre moyen de 70 hospitalisés, le débit de sewage est d'environ 1 à 2 litres par seconde. La nuit, ce débit est à peu près nul. Ce sewage reçoit directement les urines et matières fécales, antérieurement traitées par fosses septiques.

Ces eaux se présentent sous l'aspect d'un liquide opalescent, apparemment peu chargé de matières en suspension. Son pH varie de 7.25 à 7.55. Des dosages d'urée et d'azote total accusent des chiffres très variables, suivant l'heure de prélèvement. Ce dernier doit être, autant que possible, effectué par temps sec : toute pluie amène des perturbations considérables de la concentration en matières dissoutes. Aussi doit-on attendre au moins 24 heures, après chaque précipitation, pour effectuer le prélèvement des échantillons devant servir à nos expériences.

Nous allons pratiquer un essai en tous points semblable à celui que nous avons réalisé pour la solution d'urée, au cours

de l'expérience précédente. Nous laissons le sewage en contact avec le chlore actif pendant 60 minutes, avant de procéder aux dosages habituels. Nous définirons en plus l'heure du prélèvement, le taux de l'urée, celui de l'azote total et le pH des eaux résiduaires.

ESSAI 1.

Sewage recueilli à 8 heures.
Azote total : 140 mg. par litre.
Urée : 80 mg. par litre.
pH : 7.55.

	<i>Chlore actif, exprimé en équivalent d'Hyposulfite N/100 (centimètres cube)</i>									
<i>Témoins</i>	2.55	2.95	3.30	3.70	4.15	4.60	5.10	5.65	6.10	6.60
<i>Chlore résiduel</i> .	2.20	2.60	2.90	3.30	3.70	4.15	4.65	5.25	5.65	6.10
<i>Chl. fixé stable.</i>	0.35	0.35	0.40	0.40	0.45	0.45	0.45	0.40	0.45	0.50
<i>Chl. fixé labile.</i>	0.15	0.15	0.20	0.25	0.25	0.25	0.25	0.30	0.30	0.30

ESSAI 2.

Sewage recueilli à 13 heures.
Azote total : 119 mg. par litre.
Urée : 80 mg. par litre.
pH : 7.30..

<i>Témoins</i>	2.15	2.50	2.80	3.10	3.40	3.80	4.40	4.60	5.05	5.60
<i>Chlore résiduel</i> .	1.86	2.20	2.48	2.75	3.00	3.40	3.90	4.10	4.60	5.05
<i>Chl. fixé stable.</i>	0.29	0.30	0.32	0.35	0.40	0.40	0.50	0.50	0.45	0.55
<i>Chl. fixé labile.</i>	0.10	0.10	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15

ESSAI 3.

Sewage recueilli à 15 heures.
Azote total : 98 mg. par litre.
Urée : 50 mg. par litre.
pH : 7.25.

<i>Témoins</i>	2.30	3.35	4.65	6.45	7.80	9.10	10.05	12.45	14.10	16.00
<i>Chlore résiduel</i> .	2.00	3.40	4.45	6.20	7.55	8.85	9.75	12.20	13.80	15.65
<i>Chl. fixé stable.</i>	0.20	0.15	0.20	0.25	0.25	0.25	0.30	0.25	0.30	0.30
<i>Chl. fixé labile.</i>	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25

TABLEAU 5. — *Etude chimique de la chloration du sewage : contact de 1 heure.*

Les chiffres de chlore fixé stable et de chlore fixé labile, sont donc relativement peu élevés. On note toutefois une nette influence des variations du taux de l'urée sur la formation du chlore labile. Le chiffre de chlore « consommé » atteint, dans les cas les plus favorables, environ 90 mg/litre.

Nous allons aborder maintenant l'étude de l'action bactéricide du chlore. Notre but étant de rendre les eaux résiduaires parfaitement dépourvues de nocivité bactériologique, nous allons tout d'abord rechercher les plus faibles concentrations de chlore actif, nécessaires et suffisantes pour parvenir à ce résultat.

Nous avons vu que les méthodes de dosage, chimiques ou colorimétriques de telles quantités sont assez incertaines, et nous ne pourrions suivre que dans des cas très limités l'évolution de l'oxydation, dans le sewage, au cours de la destruction des bactéries.

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DE LA CHLORATION SUR LES BACTÉRIES

PLAN

Chapitre 1. — Résistance d'un germe au chlore actif.

- Introduction.
- Action oxydante et action bactéricide.
- Recherche d'un organisme-test.
- Résistance au chlore actif de « *Escherichia coli* ».
 - Numération des colonies sur milieu solide.
 - Influence de l'agitation et de l'hyposulfite.
- Limite de croissance en milieu liquide.
 - Influence du volumeensemencé.
 - Influence du pH du substrat et de l'agitation du mélange.
 - Influence de l'hyposulfite de soude.
 - Action bactéricide, sans limitation du temps de contact.

Chapitre 2. — Etude du pouvoir bactéricide des composés organiques chlorés et des hypochlorites.

- Cas des chloro-peptones.
- Cas de la chloro-urée.
- Cas des hypochlorites du commerce.

Chapitre 3. — Influence d'une agitation énergique au contact de l'air.

- Description de l'appareillage.
- Essais sur la suspension de colibacille.

Chapitre 4. — Chloration du sewage.

- Cas des bactéries.
- Cas des virus.
- Cas des bactériophages.

CHAPITRE PREMIER

RESISTANCE D'UN GERME AU CHLORE ACTIF

Alors que les eaux destinées à la consommation après traitement par le chlore actif, sont, sauf exception, relativement peu chargées en germes bactériens, les eaux résiduaires constituent, en général, de véritables bouillons de culture.

Ceci nous permet de prévoir que les doses bactéricides suffisantes dans le premier cas, ne le seront pas nécessairement dans le second. En effet, si le rapport de la masse de quelques centaines ou milliers de bactéries, à celle de quelques milligrammes (ou moins) de chlore actif, reste toujours faible, il n'en va pas de même, lorsque le nombre des germes atteint plusieurs millions par centimètre cube.

Au cours de l'expérimentation qui va suivre, nous allons d'abord rechercher la résistance au chlore actif d'un germe défini, et étudier les facteurs qui influent sur celle-ci.

Nous pratiquerons ensuite des essais de chloration du sewage, dans le but de le rendre parfaitement inoffensif du point de vue de la flore pathogène.

Toutefois, avant d'entreprendre cette étude, il convient de rappeler le mécanisme fondamental de l'action bactéricide du chlore.



ACTION OXYDANTE ET ACTION BACTERICIDE.

La plupart des auteurs se plaisent à reconnaître, actuellement, que l'action bactéricide du chlore est étroitement liée à son pouvoir oxydant. On peut remarquer d'ailleurs que les chlorures, qui résultent de la perte, par le chlore, de ce pou-

voir oxydant, sont dépourvus d'action bactéricide. D'autres oxydants sont également bactéricides : permanganate de potasse, bichromate de potasse, peroxydes, persels, eau oxygénée.

La constante d'ionisation de l'acide hypochloreux est faible :

$$\frac{\text{ClO}^- \times \text{H}^+}{\text{ClOH}} = 6.8 \cdot 10^{-8}$$

L'examen de cette constante montre que toute augmentation de l'acidité ionique du milieu (et par conséquent, tout abaissement du pH), diminue l'ionisation de l'acide hypochloreux. Par ailleurs, IMBEAUX [10] montre que l'abaissement du pH coïncide avec une augmentation du potentiel d'oxydo-réduction. Un potentiel élevé signe donc une plus grande quantité d'acide hypochloreux non ionisé. De même, toujours d'après IMBEAUX, tous les facteurs qui abaissent ce potentiel, diminuent également le pouvoir bactéricide : addition d'ammoniaque ou d'amines, qui détruisent une partie du chlore ou le transforment en chloramines; turbidité du substrat; abaissement de la température.

BAYLISS [28], en 1931, estime que cette action relève d'une altération, irréversible, du corps bactérien, au moins dans les conditions normales.

RAHN et BARNES [29] ne pensent pas que la coagulation du protoplasme cellulaire soit à la base de la destruction des bactéries.

BARKER [30] explique l'action du chlore par une combinaison avec les lipoprotéides de la membrane cellulaire, ce qui justifie l'action retardatrice des matières organiques et la nécessité de concentrations bactéricides différentes suivant l'espèce en cause.

GREEN et STUMPF [31] montrent que l'efficacité du chlore actif est liée à l'inhibition du processus diastasique cellulaire

[28] D'après COSTIGAN. — J. bact., 1934 : 1-8 juillet 1937.

[29] RAHN et BARNES, d'après MUDGE et SMITH. — Am. J. Pub. Health., 25 : 442-447, Avril 1937.

[30] BARKER, d'après DIENERT et ETRILLARD. — Compt. rend. Acad. Sciences, 185 : 621-623, 26 sept. 1927.

[31] GREEN et STUMPF. — J. Am. Waterwks Ass., 38 : 1301-1305, n° 11, Novembre 1946.

de l'oxydation du glucose. Son action relève donc bien d'un phénomène d'oxydation brutal qui perturbe définitivement les systèmes transporteurs d'électrons.



RECHERCHE DE L'ORGANISME TEST CONVENANT A NOTRE ETUDE.

Nous allons faire choix d'un germe habituellement présent dans le sewage, et dont la résistance au chlore soit telle que sa destruction signe également celle des autres espèces microbiennes, et en particulier des pathogènes.

TONNEY et GREER [32] recommandent l'emploi de « *Escherichia coli* ». Les hygiénistes admettent couramment que la présence des Colibacilles, dans les eaux, est un indice de contamination fécale, par des germes plus dangereux. Il faut cependant que ces Colibacilles répondent à un certain nombre de caractères biochimiques qualifiés de pathogènes : production d'indole, en particulier.

D'après les mêmes auteurs :

« Peu de travaux, sinon aucun, ont permis d'établir avec certitude la plus petite quantité de chlore exigée pour détruire un nombre connu d'une espèce connue de bactéries, dans des conditions bien déterminées permettant de comparer leurs résistances relatives.

On n'a pas établi définitivement quel micro-organisme peut être considéré comme un témoin sûr de l'efficacité d'un traitement par le chlore. Le Colibacille est presque universellement adopté comme témoin de sécurité pour le traitement bactéricide des approvisionnements d'eau. Ce choix est toutefois basé surtout sur des considérations théoriques reposant sur une analogie avec sa plus grande résistance à la chaleur, et sa survivance plus longue que celle des pathogènes communs pouvant se trouver dans les eaux ».

Le Colibacille n'est pourtant pas le plus résistant de tous les germes au chlore actif. La chloration du sewage nous mon-

trera que le dernier germe survivant est, sans conteste, « *Bacillus subtilis* ». Cependant, comme il est dépourvu de caractère pathogène et que sa destruction exige des quantités de chlore dix à vingt fois supérieures à celles que demande le Colibacille, nous ne pouvons admettre que son emploi soit recommandable.

On ne doit pas non plus oublier que le but pratique de la chloration du sewage est moins une stérilité rigoureuse, peu souhaitable, puisqu'elle entrave gravement l'épuration biologique, et confère aux eaux ainsi traitées une toxicité chimique non négligeable, qu'une destruction sélective des espèces pathogènes dont le Colibacille est le type. Celui-ci est d'ailleurs employé par de nombreux auteurs, parmi lesquels RUDOLFS, ZIEMBA [26], JOHNS et FABIAN [33].

D'autres, comme MYERS, JOHNSON, COSTIGAN [28], préfèrent ou emploient simultanément « *Staphylococcus aureus* » ou « *Salmonella typhi* ».

*
**

RESISTANCE AU CHLORE ACTIF DE « *ESCHERICHIA COLI* ».

Au lieu d'employer une souche rigoureusement standardisée, nous avons préféré isoler un germe fécal, provenant de selles où nous avons identifié simultanément le bacille d'Eberth.

Le germe, isolé par coproculture, suivant les techniques classiques, estensemencé sur milieu à la gélose et au placenta, coulé en boîtes de Pétri. Après 48 heures d'étuve à 37°, une colonie isolée estensemencée dans un ballon contenant 300 cc. d'eau peptonée à 3 %. L'expérience nous a montré que la résistance du Colibacille au chlore actif varie considérablement avec l'âge de la culture. Nous utiliserons donc des cultures de 8 heures, dont la vitalité est maximum et la densité à peu près constante.

Cette culture est centrifugée à 6.000 tours pendant une demi-heure. Le culot de centrifugation est lavé dans de l'eau

[32] TONNEY et GREER. — Am. J. Pub. Heath, 18 : 1259-1263, Oct. 1928.

[33] JOHNS. — Indust. et Engin. Chem., 26 : 787-788, Juillet 1934.

physiologique stérile, centrifugé à nouveau et remis en suspension dans un volume d'eau physiologique égal à celui de la culture initiale.

En opérant ainsi, nous évitons l'interférence de la peptone du substrat, qui pourrait dévier à son profit une partie du chlore actif.

Nous allons utiliser des techniques basées sur deux principes essentiels :

a) Numération des colonies microbiennes sur un milieu de culture solide.

b) Appréciation de la limite de croissance en milieu liquide.

*
**

Numération des colonies en milieu solide.

COSTIGAN, MUDGE, SMITH, BUTTERFIELD [28] emploient une technique dénommée par eux « Agar plate medium count », et basé sur ce principe de la numération des colonies formées sur milieu solide. TONNEY et GREER [34] préconisent l'emploi du « Ferrocyanide Agar medium ».

Des milieux plus simples, que nous avons essayés, nous ont donné des résultats satisfaisants; en particulier, le milieu à la gélose glucosée à 8/1000, en boîtes de Pétri.

Le milieu à la gélatine, employé pour la recherche générale des germes de l'eau, donne des résultats moins cohérents. Quant aux milieux dits « sélectifs », comme celui de MUELLER-KAUFFMAN, dont l'emploi paraît assez tentant, de prime abord, nous avons pu constater que les chiffres qu'ils fournissent sont en net déficit par rapport à ceux des milieux ordinaires. Il y a donc lieu de croire que le rouge de phénol et le vert lumière qui assurent la sélection, ne sont pas très favorables aux Colibacilles, déjà malmenés par le chlore.

Par ailleurs, pour avoir des résultats cohérents, il importe que les boîtes de Pétri soient de forme et de dimensions identiques, et reçoivent la même quantité de milieu à la gélose.

[34] TONNEY et GREER. — Am. J. Pub. Health., 20 : 503-508, Mai 1930.

L'émulsion bactérienne est soumise à la chloration dans des séries de tubes stériles, bouchés au coton.

On introduit dans ces tubes 10 cc. de solution tamponnée à pH 6.8, puis une quantité de chlore telle qu'on ait une concentration finale bien déterminée, et enfin 0.10 cc. de la suspension de Colibacilles que nous venons de préparer.

L'état de pollution bactérienne du mélange est contrôlé après une heure de contact entre le chlore et les microbes. Ce laps de temps, a été choisi pour deux raisons principales :

— L'étude chimique de la chloration des matières organiques, nous a montré que l'équilibre des réactions semble atteint au bout de ce délai.

— Si l'installation de chloration ne peut occuper qu'un volume réduit, il est nécessaire de prévoir un traitement bactéricide rapide.

Pour que cette notion de temps ne soit pas en défaut, il paraît nécessaire de neutraliser le chlore résiduel. Le choix de l'agent chimique déchlorant est particulièrement délicat. Il ne doit, en effet, ni outrepasser son rôle en enlevant du chlore aux bactéries ni avoir d'action propre sur la croissance des germes.

Rappelons que l'ammoniaque, en solution diluée, a été souvent employée, pour détruire l'excès de chlore dans les approvisionnements d'eau de consommation. Dans nos expériences, l'emploi d'ammoniaque laisse redouter :

— La persistance, dans le milieu, de mono- ou de dichloramines, dont l'activité bactéricide reste appréciable.

— Une action défavorable sur la croissance du Colibacille.

L'hyposulfite de soude ne présente pas ces derniers inconvénients, mais nous avons vu qu'il peut reprendre aux matières organiques, le chlore fixé sous forme labile.

Dans la pratique, nous allons être amenés à diluer fortement les mélanges de chlore et de bactéries, avant l'ensemencement, ceci pour avoir des colonies bien isolées et facilement numérables. L'expérience nous a montré qu'il faut pratiquer en général, une dilution au 1/10.000 du mélange initial et ensemer 1/2 ou 1 cc., le taux du chlore libre résiduel tombe donc au 1/10.000 de sa valeur initiale, et son action peut, dès lors, être considérée comme négligeable.

La notion de durée d'action du chlore, ne perd donc pas sa valeur, à condition que cette dilution soit effectuée en temps voulu.

En bref, lesensemencements sont réalisés sur gélose fondue et maintenue à température aussi basse que possible, dans des tubes stériles bouchés au coton. On ajoute $\frac{1}{2}$ ou 1 cc., suivant le cas, de mélange bactérien chloré convenablement dilué, à 20 cc. de gélose glucosée fondue. On mélange par retournement et on verse rapidement dans une boîte de Pétri stérile.



Nous étudierons successivement :

Le cas d'une agitation du mélange, réalisée au moyen d'un appareil de ΚΑΗΝ, réglé à trois secousses par seconde. Cette agitation est maintenue pendant 1 heure.

— Le cas de l'addition d'hyposulfite de soude en excès. Après 1 heure de contact avec le chlore actif, on prélève 1 cc. du mélange, que l'on dilue et ensemence suivant les modalités déjà exposées. Le reste est additionné de 0,5 cc. de solution stérile d'hyposulfite de soude à 10 %. On agite pendant 1/4 d'heure, et on prélève à nouveau 1 cc. qu'on dilue et ensemence comme précédemment.

Il est indispensable d'effectuer un certain nombre de témoins.

— Témoins de numération, permettant d'établir le pourcentage de destruction.

Un dixième de centimètre cube de suspension de Colibacille, est introduit dans 10 cc. de solution tampon stérile, à pH 6.8. On dilue ensuite au 1/10.000, et on ensemence $\frac{1}{2}$ cc. dans les mêmes conditions.

— Témoins de l'absence d'action de l'hyposulfite de soude ou des composés résultant de son action sur le chlore, sur la croissance des germes.

Dix cc. de mélange chloré à 10 mg. par litre sont additionnés de 0.5 cc. de solution d'hyposulfite à 10 %, et ensuite de 0.10 cc. de suspension de Colibacilles. On dilue et on ensemence dans les conditions déjà décrites.

Après 48 heures d'étuve à 37°, le nombre des colonies obtenues dans ce cas, est sensiblement le même que pour les témoins de numération. On ne peut donc mettre en évidence aucune action perturbatrice de l'hyposulfite de soude.

Pour un contact de 1 heure avec le chlore actif, à la température du laboratoire, et un séjour de 48 heures des ensemencements à l'étuve à 37°, nous avons obtenu les résultats suivants :

Concentration du chlore en mg. par litre	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1. Sans agitation.										
Nombre de germes dans 1 cc. de mélange dilué au 1/10.000 :										
— Avant hyposulfite .	38	29	8	8	2	1	0	0	0	0
— Après hyposulfite .	87	56	18	17	9	5	3	1	0	0
— Témoins de numération, 1/2 cc. de dilution au 1/10.000. Moyenne de 4 numérations : 154 colonies.										
2. Agitation.										
Nombre de germes dans 1 cc. de mélange dilué au 1/10.000 :										
— Avant hyposulfite .	31	16	3	3	1	0	0	0	0	0
— Après hyposulfite .	65	28	13	9	5	2	1	0	0	0
— Témoins de numération, 1/2 cc. de dilution au 1/10.000. Moyenne de 4 numérations : 141 colonies.										

TABLEAU 6. — Chloration d'une émulsion de Colibacille. Numération sur gélose.

Nous constatons :

— Sans agitation ni hyposulfite : une L.D. 100 (Dose létale pour la totalité des germes), comprise entre 6 et 7 mg. de chlore actif.

— Sans agitation, avec hyposulfite : L.D. = 8 à 9 mg.

— Avec agitation, sans hyposulfite : L.D. = 5 à 6 mg.

— Avec agitation et hyposulfite : L.D. = 7 à 8 mg.

En conséquence, nous voyons que ni l'agitation, ni l'hyposulfite n'ont une influence considérable.

Il faut noter cependant que, même si l'agitation du mélange ne possède pas l'action spécifiquement synergique du chlore que lui attribuent M^{lle} TECHOUYRES et PILLEMENTS [11], elle permet du moins une pénétration rapide et une répartition homogène de l'agent bactéricide.

Par ailleurs, nous avons pu nous convaincre que l'appareil de KAHN, ne réalise pas une agitation vraiment efficace. Nous aurons bientôt l'occasion de mettre au point un appareillage permettant un brassage beaucoup plus violent et s'accompagnant, à volonté, d'un courant d'air filtré, passant à travers le mélange.

Le tableau précédent montre également que des concentrations de chlore actif notablement inférieures à celles qui correspondent à la L.D. 100, possèdent déjà une activité bactéricide notable. Sans agitation ni hyposulfite, la L.D. 100 correspond à environ 7 mg. de chlore actif par litre. Or, la moitié de cette dose détruit, dans les mêmes conditions, plus de 97 % des germes. Il règne donc une indétermination relative pour la L.D. 100. Il serait donc plus exact de rechercher une L.D. 50, mais l'application pratique de ces résultats serait très difficile, étant donnée la variété des espèces microbiennes en présence dans le sewage.

MUDGE et SMITH [35] ont également signalé une reviviscence des germes, soumis successivement à l'action du chlore et à celle de l'hyposulfite de soude. L'expérience précédente nous montre cependant que le pourcentage des germes ainsi amenés à reviviscence est relativement faible. Il n'y a donc guère à craindre, dans la pratique, que les corps réducteurs

[35] MUDGE et SMITH. — Am. J. Pub. Health., 25 : 442-447, Avril 1935.

formés au cours de la fermentation du sewage, puissent avoir une telle action.

*
**

La technique de numération des colonies microbiennes sur gélose ou tout autre milieu solide, présente divers inconvénients.

— *Elle est compliquée.*

Elle demande beaucoup de manipulations successives, toutes conduites aseptiquement. Les contaminations ne sont pas rares et il faut beaucoup de matériel stérile.

— *Elle est longue.*

Lesensemencements doivent rester au moins 48 heures à l'étuve à 37°. Il est donc difficile de pratiquer des essais en série.

— *Elle peut surtout occasionner des erreurs par défaut.*

Un milieu solide, quel qu'il soit, ne réalise jamais des conditions extrêmement favorables, pour le développement quantitatif de germes déjà plus ou moins malmenés par le chlore. L'ensemencement sur gélose fondue, risque, en outre, d'« achever » indûment, un certain nombre de germes qui auraient pu survivre en milieu liquide. Le développement des colonies, en profondeur, se trouve sensiblement entravé par le manque d'oxygène. On note bien, d'ailleurs, que leur croissance est toujours moindre que celle des colonies de surface.

On ne peut cependant envisager un mode d'ensemencement différent : si l'on essaie d'ensemencer uniquement en surface, on ne peut guère obtenir de répartition homogène des colonies, et, partant, de numération valable.

*
**

Limite de croissance en milieu liquide.

Les divers inconvénients de la technique sur gélose nous amènent à adapter à nos recherches une méthode basée sur la limite de croissance des germes, en milieu liquide.

Le traitement par le chlore lui-même, reste à peu près identique à celui de l'expérience précédente : on emploie toujours la même émulsion de Colibacilles sur laquelle on fait agir des concentrations connues de chlore pendant une heure. Pour des raisons de commodité, nous emploierons cependant 1 cc. de cette émulsion, par tube à chlore. (Au lieu de 1/10 de cc.).

On peut alors procéder de deux façons :

MUDGE et SMITH [35] diluent le mélange de chlore et de bactéries, ensemencent et évaluent la limite de croissance avec le degré de dilution : on peut donc évaluer le pourcentage de destruction pour une concentration connue de chlore actif.

En comparant les chiffres obtenus avec ceux que donnent la technique sur gélose, ils constatent une concordance avant action du chlore, mais non après : lorsque la technique sur gélose indique 99 % de destruction, la technique sur liquide donne des cultures positives pour une dilution aussi forte qu'avant action du chlore.

Il n'y a donc apparemment aucune destruction des germes. On est bien obligé de convenir, pourtant, que si cette anomalie est inhérente au principe de la dilution, elle devrait se produire dans les deux cas.

Nous avons renoncé à cette dilution, tout en perdant la possibilité d'établir le pourcentage de destruction.

Chaque mélange bactérien chloré sert à ensemencer un tube contenant un milieu liquide approprié. On réalise des séries de tubes à culture parallèles aux tubes à chlore. Après 12 heures de séjour à l'étuve à 37°, ces tubes à culture nous renseigneront fidèlement sur l'état de survivance des germes et sur la concentration de chlore nécessaire pour les détruire complètement.

Le milieu qui nous a donné les meilleurs résultats est constitué simplement par de l'eau peptonée à 3 % et lactosée à 5 %, répartie à raison de 4 cc. par tube. La stérilité est contrôlée par séjour préalable à l'étuve.

Il est nécessaire de contrôler l'identité du Colibacille, dans tous les cas où l'on pourrait craindre une contamination accidentelle : le Colibacille acidifie nettement le substrat (Virage du rouge de phénol). On peut aussi, évidemment, réensemencer sur milieux différentiels et pratiquer un examen microscopique.

Le mélange bactérien chloré n'est pas dilué avant ensemencement. Il se pose donc la question de savoir, si le chlore résiduel introduit dans les tubes à culture, peut exercer encore une action bactéricide.

L'expérience suivante, va nous permettre d'élucider ce point :

Après 1 heure de contact à la température du laboratoire, nous ensemençons avec le mélange des tubes à chlore, cinq séries de tubes à culture, à raison de :

2 gouttes pour chaque tube de la 1 ^{re} série.				
4 — — — —	2 ^e série.			
6 — — — —	3 ^e série.			
8 — — — —	4 ^e série.			
10 — — — —	5 ^e série.			

Concentration du chlore actif, en mg./litre	0.39	0.78	1.56	3.12	4.68	6.24	7.80
Nombre de gouttes :							
2	+	+	+	+	o	o	o
4	+	+	+	+	o	o	o
6	+	+	+	+o	o	o	o
8	+	+	+	+o	o	o	o
10	+	+	+	+o	o	o	o

TABEAU 7. — Influence du volumeensemencé sur la sensibilité au chlore (1 heure de temps de contact).

+ : culture positive.
o : culture négative.
+o : culture douteuse.

Ces gouttes sont mesurées au moyen de pipettes Pasteur stériles d'un diamètre relativement constant.

Cette expérience montre que le volumeensemencé n'a guère d'influence sur les chiffres de chlore, et, par suite, que l'action du chlore résiduel est bien faible, puisque la dernière série, qui en contient cinq fois plus que la première, donne seulement une culture douteuse de plus. Il est probable que ce chlore résiduel disparaît sous l'influence du pouvoir de « consommation » du substrat : en effet, on ne peut plus le

mettre en évidence, alors qu'on peut encore le faire sur un témoin d'eau distillée.

Nous ensemencerons donc désormais 2 gouttes de mélange bactérien chloré.

Cette expérience montre, par ailleurs, que la sensibilité au chlore du Colibacille, dans les conditions décrites, se situe entre 3.12 et 4.68 mg. par litre.

*
**

Influence du pH du substrat et de l'agitation du mélange.

Une gamme de solutions tampon de pH croissant, est réalisée d'après la formule de SOERENSEN. Le pH exact de chaque mélange, après introduction du chlore et de l'émulsion bactérienne, est contrôlé au moyen du pH-mètre de JOUAN.

L'agitation est réalisée au moyen d'un appareil de KAHN, réglé à trois secousses par seconde et fonctionnant sans interruption pendant l'heure de contact entre le chlore et les Colibacilles.

Concentration du chlore actif en mg. par l. pH = 6.81	0,94	1.88	2.82	3.76	4.70	5.64	6.58	7.52	8.46
Série agitée	+	+	+	o	o	o	o	o	o
Série non agitée	+	+	+	+	o	o	o	o	o
pH expéri- mentés :									
4.75	+	+	+o	o	o	o	o	o	o
5.45	+	+	+	o	o	o	o	o	o
5.89	+	+	+	o	o	o	o	o	o
6.28	+	+	+	+o	o	o	o	o	o
6.64	+	+	+	+o	o	o	o	o	o
6.81	+	+	+	+	o	o	o	o	o
7.10	+	+	+	+	o	o	o	o	o
7.60	+	+	+	+	+o	o	o	o	o
8.00	+	+	+	+	+	+	o	o	o
8.60	+	+	+	+	+	+	+	+	o

TABLEAU 8. — Influences de l'agitation et du pH sur la sensibilité au chlore du Colibacille.

Il ressort de ces expériences :

— Que l'efficacité de l'agitation, comme dans le cas des expériences de numération sur gélose, est loin d'être aussi brillante qu'on pourrait l'espérer. Nous avons déjà dit, toutefois, que l'appareil de KAHN ne réalise pas l'agitation correspondant à une Verdunisation efficace.

— Nous constatons par ailleurs que l'efficacité bactéricide du chlore augmente lorsque le pH diminue. Le chlore apparaît environ trois fois plus efficace à pH 4.75 qu'à pH 8.60.

Ce fait est reconnu par de nombreux auteurs : HOLWERDA [36], en 1928, admet que les variations du degré de destruction bactérienne avec le pH, sont précisément celles qu'on peut calculer en attribuant à l'acide hypochloreux non ionisé le seul pouvoir bactéricide. MARKS, WYSS, STRANDKOV [37] montrent également que la concentration de chlore actif nécessaire pour détruire 99 % des bactéries présentes, varie en fonction directe du pH.

Nous allons pratiquer une autre expérience, afin de démontrer que le chlore « immédiatement » oxydant, est seul doué d'une action bactéricide. On a vu que ce chlore « immédiatement » actif, varie en fonction inverse du pH et qu'il est représenté essentiellement par le chlore moléculaire et l'acide hypochloreux.

Une solution d'hypochlorite de soude du commerce est diluée au 1/3. Un dosage de BUNSEN, après acidification, accuse 5.68 gr. par litre d'équivalent de chlore actif. Le pH de la solution est de 12.50. On ajoute alors quelques cristaux d'iodure de potassium et on neutralise exactement l'iode libéré, par l'hypo-sulfite de soude. Après acidification, cette solution accuse encore un équivalent de 5.40 gr. par litre de chlore actif. Ce chlore se trouve donc exclusivement sous forme d'ions et de molécules d'hypochlorite. Le pH n'a pas varié.

Dans quatre tubes stériles et bouchés au coton, on introduit 0.5, 1, 1.5 et 2 cc. de cette solution de chlore actif. On amène à un volume de 10 cc. avec de l'eau physiologique stérile et on ajoute 1 cc. de suspension de Colibacilles. On réalise des

[36] HOLWERDA, d'après MARKS, WYSS et STRANDKOV. — J. Bact. 49 : 299-305, Mars 1945.

[37] MARKS, WYSS et STRANDKOV. — J. Bact., 49 : 299-305, Mars 1945.

ensemencements de chaque mélange, après 1, 2, 6, 12, 24 et 48 heures de contact entre le chlore actif et les germes.

Après 48 heures de contact, on prélève 5 cc. du contenu de chaque tube à chlore, et on procède à un dosage iodométrique, après acidification. Un dosage volumétrique devient possible dans ce cas particulier, en raison de la forte concentration du chlore actif. On contrôle également le pH sur le contenu de chaque tube à chlore.

<i>Chlore actif résiduel :</i>				
1. En $S^2 O^3 Na^2$ N/100, pour 5 cc. de prise d'essai	3.8	7.5	12.2	15.1
2. En mg./litre d'équivalent de chlore actif	269	532	795	1072
pH du mélange	11.45	11.48	11.64	11.69
<i>Durée de contact :</i>				
1 heure	+	+	+	+
2 heures	+	+	+	+
6 heures	+	+	+	+
10 heures	+	+	+	+
24 heures	+	+	+	+
48 heures	+	+	+	+

TABLEAU 10. — *Etude du pouvoir bactéricide d'un hypochlorite en milieu alcalin.*

Cette expérience montre que des concentrations relativement considérables de chlore actif, uniquement sous forme d'ions hypochlorite, sont totalement dépourvues d'action bactéricide, même après un contact prolongé bien au delà des limites habituelles. Nous avons ensemencé à chaque temps, un témoin non chloré. Nous avons pu constater que tous les tubes à chlore, **sans exception**, donnent des cultures aussi vigoureuses et précoces que les témoins.

De plus, on retrouve à la fin de l'expérience, la totalité du chlore actif mis en jeu.

On constate accessoirement que le séjour de 48 heures des Colibacilles, dans un substrat de pH aussi élevé, n'altère pas sensiblement ses possibilités de croissance ultérieure.

Cependant PRUCHA [38] ne trouve pas de différence notable de l'action du chlore, en milieu acide ou en milieu alcalin.

FABIAN et BEAVERS [38] attribuent même à l'accroissement d'alcalinité d'une solution d'hypochlorite, par le carbonate de soude, le phosphate trisodique ou le métasilicate de sodium, une augmentation du pouvoir germicide. JOHNS [33] souligne toutefois que ces auteurs opèrent à une température de 50° et, avec des concentrations relativement élevées. Il est donc probable qu'il se produit une lyse des germes sous l'influence de l'alcali, mais le chlore actif n'intervient pas dans ce phénomène : en effet, des témoins alcalins sans chlore montrent la même destruction bactérienne.

*
**

Action de l'hyposulfite de soude à doses variables.

Nous avons déjà étudié le comportement de l'hyposulfite de soude, au cours de la technique de numération des colonies sur gélose. La simplicité et la rapidité de la technique de culture en milieu liquide, vont nous permettre d'étudier ce comportement, en faisant varier, à la fois, la quantité d'hyposulfite et la concentration du chlore actif.

On prépare six séries identiques de tubes à chlore, à concentration croissante, en milieu tamponné de pH 6.8. Après une heure de contact avec l'émulsion de Colibacilles, on ensemence une de ces séries, et on traite les cinq autres par une solution stérile d'hyposulfite de soude à 10 %, à raison de :

2 gouttes	pour chaque tube de la première série.
4 gouttes	— la seconde série.
6 gouttes	— la troisième série.
8 gouttes	— la quatrième série.
10 gouttes	— la cinquième série.

On laisse agir l'hyposulfite pendant un quart d'heure, en agitant modérément. On ensemence alors les cinq séries et on porte les tubes ensemencés à l'étuve à 37°, pendant 12 heures.

[38] D'après JOHNS. — Indust. et Engin. Chem., 26 : 787-788, Juillet 1934.

Concentration du chlore actif, en millig./litre	1.1	2.2	3.3	4.4	5.5	6.6	7.7	8.8	9.9
Témoins	+	+	+	+	o	o	o	o	o
2 gouttes d'hypo- sulfite	+	+	+	+	+o	o	o	o	o
4 gouttes d'hypo- sulfite	+	+	+	+	+o	o	o	o	o
6 gouttes d'hypo- sulfite	+	+	+	+	+	o	o	o	o
8 gouttes d'hypo- sulfite	+	+	+	+	+	o	o	o	o
10 gouttes d'hypo- sulfite	+	+	+	+	+	o	o	o	o

TABLEAU 11. — Influence de l'hyposulfite de soude à doses variables.

Nous constatons donc une reviviscence nette sous l'influence de l'hyposulfite de soude. Cependant, la marge d'action de l'hyposulfite de soude apparaît assez réduite.

Pour compléter l'étude de l'influence de l'hyposulfite de soude sur une émulsion bactérienne chlorée, nous allons faire varier le pH du substrat.

Nous préparons 5 séries de 9 tubes contenant des concentrations croissantes de chlore actif. Chaque série est faite au moyen d'une solution tampon différente, de manière à avoir une échelle de valeurs croissante. Après une heure de contact entre l'émulsion de Colibacilles et le chlore actif, on ensemence chaque tube, dans les conditions déjà décrites. On ajoute ensuite, aseptiquement, 5 gouttes de solution d'hyposulfite de soude à chaque tube. On agite modérément pendant 1/4 d'heure et on ensemence à nouveau. On porte les tubes à culture à l'étuve à 37° pendant 12 heures.

Concentration du chlore actif, en millig./litre	1.04	2.08	3.12	4.16	5.20	6.24	7.28	8.32	9.36
pH. 4.77 :									
Avant hyposulfite.	+	+	+0	0	0	0	0	0	0
Après hyposulfite.	+	+	+	0	0	0	0	0	0
pH. 5.85 :									
Avant hyposulfite.	+	+	+	0	0	0	0	0	0
Après hyposulfite.	+	+	+	+0	0	0	0	0	0
pH. 6.30 :									
Avant hyposulfite.	+	+	+	0	0	0	0	0	0
Après hyposulfite.	+	+	+	+	0	0	0	0	0
pH. 7.10 :									
Avant hyposulfite.	+	+	+	+	0	0	0	0	0
Après hyposulfite.	+	+	+	+	+	0	0	0	0
pH. 8.60 :									
Avant hyposulfite.	+	+	+	+	+	+	+	0	0
Après hyposulfite.	+	+	+	+	+	+	+	+	0

TABLEAU 12. — *Influence du pH sur le comportement de l'hyposulfite de soude.*

Dans les conditions de cette expérience, l'action de l'hyposulfite apparaît un peu plus marquée en milieu alcalin qu'en milieu acide. Toutefois, la différence n'est pas assez forte pour qu'on puisse en tirer une conclusion nette.

**

Action bactéricide du chlore, en fonction du temps de contact.

Dans les expériences que nous venons de citer, nous avons laissé agir le chlore pendant une heure. Nous avons déjà dit que ce délai répond à deux données : équilibre des réactions chimiques entre le chlore et les matières organiques et nécessité pratique d'une action bactéricide assez rapide.

Il n'en reste pas moins que l'action du chlore peut se prolonger et il n'est pas sans intérêt de rechercher dans quelle mesure la population bactérienne du sewage est réduite au delà de ce délai, ou, ce qui revient au même, de voir si une dose de chlore moindre que celle des cas précédents peut stériliser complètement le milieu par une action plus lente.

La neutralisation de l'excès de chlore actif du sewage traité et rejeté ensuite dans un cours d'eau, n'est nécessaire qu'autant que cet excès n'est pas trop important. Pour les taux de chloration employés habituellement, et pour un débit de sewage peu élevé comparativement à celui du cours d'eau, la déchloration est rarement indispensable.

Nous allons donc rechercher le temps minimum indispensable pour obtenir la stérilité complète d'une émulsion de Colibacille, sous l'influence d'une concentration bien déterminée de chlore actif.

Nous opérons au moyen d'une série de tubes à chlore, de concentrations croissantes, agissant sur l'émulsion bactérienne à un pH de 6.8. Nous ensemençons le mélange bactérien chloré à intervalles déterminés, en même temps que des témoins non chlorés, destinés à contrôler la vitalité du Colibacille. Ces divers ensemencements sont portés à l'étuve à 37° et, après une durée uniforme de 12 heures de séjour, nous constatons les résultats suivants :

Concentration du chlore actif, en millig./litre	1.24	2.48	3.72	4.96	6.20	7.44	8.68	9.92	Tém
<i>Temps de contact :</i>									
2 heures	+	+	+	o	o	o	o	o	+
4 heures	+	+	+o	o	o	o	o	o	+
6 heures	+	+	+o	o	o	o	o	o	+
12 heures	+	+	o	o	o	o	o	o	+

TABLEAU 14. — *Action bactéricide du chlore, en fonction du temps de contact.*

Cette expérience montre une action bactéricide du chlore qui se prolonge au delà de une heure, mais à un rythme ralenti. La dose bactéricide pour une heure était, rappelons-le, comprise entre 3.5 et 4.5 mg. par litre. Nous constatons, après 12 heures de contact, un abaissement sensible de la L.D. 100. Compte tenu des marges de sécurité indispensables, cet abaissement n'est pas assez marqué pour justifier une réduction du taux de chloration dans les stations de traitement.

CHAPITRE II

ETUDE DU POUVOIR BACTERICIDE DES COMPOSES ORGANIQUES CHLORES ET DES HYPOCHLORITES

Nous venons de voir que l'action bactéricide se poursuit lentement pendant 12 heures, au moins.

Le chlore résiduel libre est évidemment responsable de cette action, mais des composés à chlore labile peuvent aussi jouer un rôle important.

Ceux-ci se forment à la fois sur les protides inertes et l'urée dissouts dans le substrat et sur les protides des corps bactériens : en effet, au cours des expériences précédentes, après une heure de contact entre le chlore et les Colibacilles, il est presque toujours possible de mettre en évidence, par les moyens déjà décrits, du chlore résiduel libre, ainsi que des traces de chlore labile. Or, ces expériences sont réalisées en l'absence de tout substrat organique inerte.

Le sewage contient toujours, à l'origine du moins, des protides inertes et de l'urée. Si nous sommes redevables aux premiers de la consommation d'une partie du chlore libre, ils peuvent également donner des composés à chlore labile. Les radicaux aminés libres et surtout les liaisons peptidiques, sont à l'origine de ces composés. L'urée, par ses deux fonctions amides, peut aussi donner des chloro-urées oxydantes.

Dans l'étude de l'action bactéricide des composés organiques chlorés, nous devons donc distinguer ceux qui ont « consommé » le chlore, de ceux qui peuvent le libérer à nouveau.

A. — CAS DES CHLORO-PEPTONES.

A première vue, le chlore fixé irréversiblement par une peptone, semble perdu pour l'action bactéricide en temps qu'oxydant. Il n'en reste pas moins que le chlore substitué pourrait exalter un pouvoir antibactérien plus ou moins latent de la molécule, comme dans le cas des chloro-phénols.

Six tubes, contenant chacun 5 cc. de solution stérile de peptone « Roche » à 1 % dans l'eau physiologique, sont traités par un égal volume d'eau de chlore. Deux cc. de celle-ci équivalent à 13.3 cc. d'hyposulfite de soude N/100.

Après une heure de contact, on dose le chlore résiduel dans l'un des tubes. On retrouve un équivalent de 24 cc. d'hyposulfite de soude N/100, pour la totalité de la prise d'essai. A un autre tube, on ajoute goutte à goutte, une solution stérile d'hyposulfite de soude à 10 %. Quinze gouttes de cette solution sont nécessaires pour faire disparaître l'excès de chlore en présence de réactif ioduro-amidoné.

La même quantité de solution stérile d'hyposulfite à 10 % est alors introduite aseptiquement dans les quatre autres tubes. Trois de ceux-ci sont ensemencés avec :

Escherichia coli.

Bacillus subtilis.

Bacillus proteus.

Le dernier tube sert de témoin de stérilité.

Après 12 heures d'étuve à 37°, on constate que la peptone chlorée cultive aussi vigoureusement et précocement que des témoins d'eau peptonée ordinaire, ensemencés en même temps avec les mêmes germes.

RUDOLFS et ZIEMBA [26] constatent la même chose pour les chloro-protéines et les chloro-peptones.

En conséquence, nous voyons qu'une quantité de chlore fixé, stable, équivalent à 1.7 mg. par cc. de solution de peptone, d'après le calcul que l'on peut faire avec le dosage du premier tube, est complètement dépourvue d'action bactéricide. Il est possible que des concentrations beaucoup plus fortes soient plus efficaces. Quoiqu'il en soit, en ce qui concerne la chloration du sewage, cette action reste inexistante.

Il est apparemment facile de préparer une solution de peptone ne contenant que du chlore labile, en la traitant par une quantité d'hyposulfite de soude équivalant seulement à la différence entre le chlore résiduel total et le chlore labile. En réalité, le problème est un peu plus complexe :

Le chlore labile se dissocie pour réaliser un nouvel équilibre, lorsqu'on fait disparaître le chlore libre. Il faut noter que cette dissociation n'est pas instantanée, comme en témoigne le principe du test à la phtaléine, mais qu'elle interdit une expérimentation précise de quelque durée.

La « consommation » de la peptone peut dévier une partie de ce chlore labile.

Par contre, il est très facile de préparer de la chloro-urée ne contenant que très peu de chlore libre. De plus, dans ce cas, nous n'avons pas à craindre de fixation irréversible de la part de l'urée, du moins dans les conditions où nous opérons.



B. — CAS DE LA CHLORO-URÉE.

De l'eau de chlore extemporanée est diluée au 1/4 et additionnée de 5 % d'urée pure. On note presque aussitôt la disparition à peu près totale de l'odeur et de la saveur de chlore.

Après une heure de contact, on dose le chlore résiduel total et le chlore labile, sur deux prises d'essai de 4 cc. On trouve respectivement pour l'un et pour l'autre, l'équivalent de 6.1 et 5.6 cc. d'hyposulfite N/100. Nous voyons donc que la masse active de l'urée étant relativement considérable, la plus grande partie du chlore se trouve sous forme combinée. Ce qui reste représente la quantité normalement en équilibre dans les conditions de l'expérience.

Nous procédons alors à des essais analogues à ceux que nous avons déjà faits, en indiquant simplement l'équivalent de chlore actif. Nous opérons en milieu tamponné à pH 6.8.

Equivalent de chlore actif de la dichloro-urée.

(exprimé en mg./litre de chlore actif)

<i>Temps de contact :</i>	1.075	2.150	3.225	4.300	5.375	6.450	7.525	8.600	9.675
1 heure	+	+	+	+	+	+	+0	0	0
2 heures	+	+	+	+	+	+	0	0	0
4 heures	+	+	+	+	+	+	0	0	0
6 heures	+	+	+	+	+	0	0	0	0
12 heures	+	+	+	+	+	0	0	0	0

TABLEAU 15. — *Action bactéricide de la chloro-urée.*

Nous voyons donc que l'action bactéricide de la chloro-urée est plus faible que celle du chlore libre en quantité équivalente. Rappelons que celle-ci se situe entre 3.6 et 4.5 mg. par litre, au bout d'une heure, toutes choses étant égales d'ailleurs.

L'atténuation de l'action bactéricide de la chloro-urée peut s'expliquer par le fait qu'elle n'agit que par le chlore libre qui lui fait équilibre et dont la masse active est d'autant moindre que la concentration de l'urée est plus élevée. Par contre, cette masse active diminue beaucoup moins vite que dans le cas du chlore libre, puisque la chloro-urée forme une réserve.

Nombre d'auteurs ont constaté une action soi-disant protectrice de l'urée et des protides, contre l'action germicide du chlore. RUDOLFS et ZIEMBA [26] notent que si on ajoute de l'urée ou de l'urine au sewage, il faut augmenter la concentration du chlore actif pour avoir le même taux de destruction bactérienne dans le même temps, ce qui est confirmé par l'expérience précédente.

Mais on peut penser aussi que l'azote de l'urée et des protides protège le chlore contre les influences qui dégradent trop vite son pouvoir oxydant.

Nous avons constaté en effet, après avoir conservé pendant plusieurs jours une partie de la solution d'urée chlorée, que nous venons de préparer, ainsi que de l'eau de chlore de même concentration, que celle-ci baisse beaucoup plus rapidement de titre sous l'influence de l'air et de la lumière.

Nous avons dosé le chlore résiduel sur 4 cc. de prise d'essai, toutes les 24 heures.

	<i>Dosage immédiat</i>	<i>Après 24 h.</i>	<i>Après 48 h.</i>	<i>Après 72 h.</i>
<i>Eau de chlore..</i>	7.5	6.4	3.1	1.5
<i>Urée chlorée...</i>	6.1	5.9	5.5	5.0

TABLEAU 16. — *Action de l'urée sur le chlore actif.*

Cette expérience montre bien que le pouvoir oxydant du chlore est protégé par l'urée. Plusieurs explications sont possibles :

— Diminution des pertes par entraînement, puisque le chlore n'est plus dissout, mais combiné. Nous avons déjà dit, d'ailleurs, que l'urée chlorée ne présente presque plus d'odeur et de couleur de chlore.

— Protection du chlore, contre l'influence des radiations lumineuses.



C. — CAS DES HYPOCHLORITES.

Les sources de chlore actif les plus banales comme les moins chères, sont représentées par les divers hypochlorites alcalins et alcalino-terreux. Divers produits comme l'« Eupad » et l'« Eusol », naguère répandus sur le marché, doivent l'essentiel de leur action au chlorure de chaux.

D'autre part, leur maniement est infiniment plus aisé que celui du chlore gazeux ou liquide.

DAKIN et DUNHAM [19] admettent que l'acide hypochloreux est le seul agent actif et que le pouvoir bactéricide de ces hypochlorites est lié à la facilité avec laquelle ils se combinent avec les protéines et corps voisins.

DAKIN [6] constate, au cours du traitement des blessures de guerre infectées, une réduction caractérisée des processus septiques, par application de solutions d'hypochlorite. Celles-ci titrent en moyenne 1.5° par litre, soit 4.7 gr. de chlore actif pour 1.000. Ces concentrations sont très supérieures à celles qu'il est possible d'employer pratiquement dans la chloration du sewage.

Dans le cas des blessures, l'alcalinité propre de l'hypochlorite peut liquéfier partiellement les protides, ce qui facilite l'action du chlore actif — et provoque même des nécroses.

Dans le cas du sewage, les concentrations respectives du chlore actif et des protides sont trop faibles, pour qu'on puisse espérer une telle action, éminemment souhaitable.

L'alcalinité d'un hypochlorite en solution apparaît due, sauf exception, moins à un excès de base non combinée, qu'à la dissociation électrolytique de la molécule d'hypochlorite. DAKIN [6] attribue à cette dissociation, la majeure partie de l'action irritante des hypochlorites et, comme elle augmente avec la dilution, on arrive bientôt au point où le pouvoir antiseptique baisse, alors que l'action irritante persiste.

L'expérience suivante montre bien à quel point l'ionisation est responsable de l'alcalinité des hypochlorites :

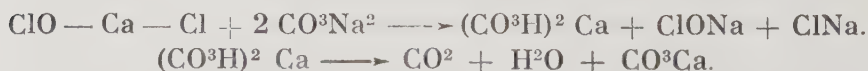
On fait passer un courant de chlore gazeux dans un lait de chaux à 1 %. On filtre et on titre le chlore actif. Après acidification, le dosage selon BUNSEN montre un équivalent de 5.52 gr. par litre, de chlore actif.

Le pH, mesuré à l'appareil de JOUAN, est de 12.25.

On traite 10 cc. de cette solution, par 1 cc. d'eau oxygénée concentrée et neutre. Le pH tombe à 8.6. L'alcalinité résiduelle, due seulement à la dissolution de l'hydroxyde de calcium, est donc faible.

Par ailleurs, le pouvoir oxydant de la solution initiale d'hypochlorite de calcium est minime, puisque le mélange de 10 cc. de celle-ci et d'une goutte de solution d'éosine au 1/1.000, conserve sa coloration pendant plus de une heure.

Si nous traitons cet hypochlorite par un excès de bicarbonate de sodium — Cas de la préparation de DAKIN —, nous constatons tout d'abord un précipité de carbonate de chaux et un dégagement d'anhydride carbonique.



Après élimination du carbonate de chaux par filtration, nous contrôlons le pH que nous trouvons à 7.90. Le bicarbonate de sodium en excès et l'anhydride carbonique, semblent donc bien créer un milieu-tampon responsable de cet abaissement marqué du pH.

Le pouvoir oxydant de cette solution dont le chiffre de chlore actif n'a pas varié sensiblement, est considérablement augmenté. Il faut plus de 15 cc. de la même solution d'éosine, pour avoir, par mélange avec 10 cc. de celle-ci, une coloration persistante. Cette augmentation semble donc en relations directes avec la diminution du pH.

Nous allons expérimenter le pouvoir bactéricide de la solution d'hypochlorite que nous venons de préparer. Nous employons la même technique qu'avec l'urée chlorée. Nous ferons toutefois agir l'hypochlorite, non en milieu tamponné, mais dans l'eau physiologique, afin de pouvoir contrôler les variations du pH.

<i>Equivalent de chlore actif en milligrammes/litre :</i>										
	1.10	2.20	3.30	4.40	5.50	6.60	7.70	8.80	9.90	11.00
<i>pH correspondants :</i>										
	7.15	7.17	7.25	7.26	7.45	7.51	7.52	7.52	7.55	7.55
<i>Temps de contact :</i>										
1 heure	+	+	+	+	o	o	o	o	o	o
2 heures	+	+	+	+	o	o	o	o	o	o
4 heures	+	+	+	+o	o	o	o	o	o	o
6 heures	+	+	+	+o	o	o	o	o	o	o
12 heures	+	+	+	o	o	o	o	o	o	o

TABLEAU 17. — *Etude de l'action bactéricide des hypochlorites.*

Nous voyons donc que le comportement de l'hypochlorite est exactement celui du chlore actif en milieu tamponné de pH correspondant. (Voir Tableau 8).

Dans le sewage, nous avons pu constater que de telles doses d'hypochlorites ne provoquent que des variations très faibles du pH. Pour du sewage d'hôpital recueilli à 8 heures du matin, par temps sec, nous trouvons un pH de 7.25. Nous introduisons l'équivalent de la plus forte dose d'hypochlorite employée dans l'expérience précédente. Après 1 heure de contact, nous contrôlons à nouveau le pH : nous le trouvons à 7.39. La différence est donc infime, et ne peut réduire sensiblement l'activité du chlore actif.

Il est probable, par conséquent, que le sewage exerce un effet tampon contre l'alcalinisation due à l'hypochlorite. Il est très possible que l'essentiel de cette action soit en relation avec l'anhydride carbonique dissout, provenant soit de la teneur normale du sewage, soit d'une fermentation aérobie des glucides.



CHAPITRE III

INFLUENCE D'UNE AGITATION ENERGIQUE AU CONTACT DE L'AIR

Nous avons déjà constaté à diverses reprises que l'appareil de KAHN ne donne pas les résultats escomptés, en ce qui concerne le pourcentage des germes détruits au cours de la chloration.

Cependant, l'influence de l'agitation paraît primordiale, si l'on s'en réfère aux travaux de M^{lle} TECHOUEYRES et PILLEMENT [11] : elle ferait passer le taux de destruction bactérienne de 11 à 66 % et de 26 à 81 %, pour des taux de chloration du sewage équivalents respectivement à 0.1 et 1 mg./litre. Bien que ces chiffres ne fassent pas état d'une destruction complète des germes présents, l'efficacité de l'agitation paraît considérable.

Nous sommes donc amenés à penser que l'appareil de KAHN ne réalise pas une agitation suffisante pour avoir un résultat comparable à celui de la Verdunisation. Dans celle-ci, l'agitation est obtenue, en principe, par une pompe centrifuge ou par tout appareillage susceptible, non seulement d'homogénéiser rapidement le mélange, mais aussi de lui insuffler de l'air.

Nous avons donc mis au point un appareillage permettant de réaliser ces conditions.



I. — Description de l'appareillage.

Une fiole de Büchner, d'une contenance de 1 litre, est munie d'un système d'agitation consistant essentiellement en un tube de verre coudé et pivotant dans l'axe d'un bouchon de liège adapté au goulot. Cet agitateur est mù par un moteur électrique, avec diverses démultiplications. La partie coudée qui plonge dans le liquide contenu dans la fiole, sert de pale.

On met simultanément le bec de la fiole en rapport avec une trompe à vide. L'air pénètre donc dans le système par l'extrémité supérieure libre de l'agitateur, que l'on munit d'un tampon de coton. L'air, filtré et débarrassé de ses germes, barbote dans le contenu de la fiole, par l'extrémité mobile de l'agitateur, et repart vers la trompe à vide.



II. — Essais sur la suspension de colibacilles.

Six fioles identiques reçoivent chacune 250 cc. de solution tampon de pH 6.8. On bouche au coton, on stérilise à l'autoclave et on ajoute, après refroidissement, 25 cc. de suspension de Colibacille. Nous nous trouvons donc dans des concentrations de germes analogues à celles des expériences en tube.

Nous allons expérimenter trois doses de chlore actif : 4,5, 3 et 1 mg. par litre.

La première a été choisie parce qu'elle représente précisément la concentration active des expériences précédentes, dans les conditions décrites.

La deuxième a été choisie, parce qu'elle n'assure pas une destruction complète des germes dans les mêmes conditions. Elle est néanmoins assez proche de la précédente.

Quant à la troisième, elle n'assure la stérilité complète dans aucune des expériences précédentes et elle est relativement éloignée de la première.

Chacune de ces doses est alors introduite dans deux fioles, dont l'une reste au repos après une agitation modérée de 5 minutes, alors que l'autre est violemment agitée et aérée pendant 1 heure.

Au bout de ce temps, nous ensemençons deux gouttes du contenu des fioles, dans des tubes d'eau peptonée et lactosée. Après 12 heures d'étuve, nous constatons les résultats suivants :

Concentration du chlore actif en mil- ligrammes par litre	1	3	4,5
<i>Etat des cultures.</i>			
a) Non agitées	+	+	o
b) Agitées	+o	o	o

TABLEAU 18. — *Influence d'une agitation énergique au contact de l'air.*

L'ensemencement correspondant à 1 mg. par litre, le mélange n'étant pas agité, est positif. Après agitation, il paraît négatif après 12 heures d'étuve, mais finit par cultiver après 24 heures. L'action bactéricide est donc considérablement renforcée quoiqu'insuffisante à assurer la stérilité complète et définitive.

Pour 3 mg. par litre, l'agitation stérilise définitivement le milieu, alors que le chlore seul n'y parvient pas.

Pour 4.5 mg. par litre, les ensemencements restent stériles dans les deux cas.

En raison du volume employé, nous pouvons doser le chlore résiduel dans les fioles après avoirensemencé le mélange.

Nous constatons les faits suivants :

Pour les mélanges *non agités* :

-- La concentration de 1 mg./litre, ne laisse que des traces indosables.

-- La concentration de 3 mg./litre laisse finalement l'équivalent en chlore de 1.2 cc. d'hyposulfite de soude N/100.

-- La concentration de 4.5 mg. par litre équivaut à la fin à 2 cc. d'hyposulfite de soude N/100.

Dans le cas des mélanges *agités*, on ne retrouve dans aucun cas, la moindre trace de chlore résiduel.

On peut donc penser à une augmentation de fixation irréversible de chlore, en liaison avec l'augmentation de l'action bactéricide. En réalité, le chlore a été entraîné par le courant

d'air, comme en témoignent des fioles contenant les mêmes quantités de chlore sans émulsion bactérienne et traités dans les mêmes conditions.

En conséquence, les doses actives sont assurément inférieures aux chiffres du tableau précédent, puisqu'une certaine quantité de chlore actif est éliminée avant d'avoir pu exercer son action.

L'activité bactéricide du chlore est donc nettement augmentée par un contact étendu avec l'air. Cette action pourrait s'expliquer par le fait que l'accélération des processus aérobies sous l'influence de l'air, expose davantage les systèmes enzymatiques à une oxydation irréversible par le chlore.

Nous avons répété le même essai, sans faire intervenir de passage d'air. Nous obtenons sensiblement les mêmes chiffres que dans l'expérience précédente. Nous ne retrouvons d'ailleurs que des traces de chlore résiduel, même dans ces conditions. Nous devons donc admettre que la seule agitation est assez violente pour éliminer une partie du chlore résiduel.

CHAPITRE IV

CHLORATION DU SEWAGE

Il peut paraître arbitraire de vouloir étendre les résultats concernant un germe défini au cas général de la chloration du sewage.

Les eaux résiduaires contiennent, comme nous l'avons déjà dit, une foule de germes vivants, appartenant aux groupes les plus divers : microbes, infusoires, protozoaires, moisissures, etc... L'opportunité du traitement par le chlore est très différente pour chaque espèce, et même au sein d'une même espèce, pour chaque individu. Dans la pratique, le problème consiste surtout à éliminer les éléments nocifs, représentés par un petit groupe de bactéries pathogènes et de virus.

Cette complexité nous a donc obligés à simplifier quelque peu le problème afin de nous en faire une idée plus nette. Aussi nous sommes-nous attachés à l'étude de la chloration d'un germe défini et suffisamment représentatif du groupe des éléments nocifs.



I. — CAS DES BACTERIES.

Il est bien évident qu'il est sans intérêt de vouloir rendre, à tout jamais, les eaux résiduaires stériles, puisqu'un grand nombre des germes présents, loin d'être nuisibles, contribuent puissamment à l'épuration de ces eaux et permettent aux éléments qui s'y trouvent, de poursuivre leur cycle naturel.

Toutefois, il importe de pratiquer sur le sewage lui-même, des essais qui doivent nous renseigner, au moins approximativement, sur le comportement « en liberté » des germes sus-visés. Il faut insister d'ailleurs sur le fait que ces essais ne sauraient avoir d'intérêt d'ordre général et que tout projet d'assainissement doit être précédé d'une étude portant précisément sur le cas proposé.

Cette expérimentation doit se faire sur le sewage « frais », dans lequel les fermentations n'auront que peu ou pas modifié la composition qualitative et quantitative en micro-organismes.

Nos essais ont porté sur des eaux recueillies dans le canal collecteur des eaux résiduaires de la Clinique des Maladies contagieuses, à l'Hôpital de la Croix-Rousse.

Notons au passage que, bien que ces eaux contiennent les urines et matières fécales provenant du service en question (antérieurement traités par fosses septiques qui furent abandonnées pour cause d'inefficacité), il nous a été le plus souvent impossible de mettre en évidence un germe plus dangereux que le banal Colibacille. Il est vrai que, sauf en période d'épidémie, de plus en plus rares d'ailleurs, les cas traités dans ce service sont peu nombreux et les thérapeutiques modernes ne laissent guère aux malades le loisir d'un long séjour et la possibilité de disséminer beaucoup de germes virulents.

Comme ces eaux correspondent à la production quotidienne moyenne d'un assez petit groupe d'individus, leur composition est éminemment variable et suit, il faut bien le dire, le rythme des repas.

En dépit de la présence présumée de matières fécales, ce sewage se présente habituellement sous l'aspect d'un liquide opalescent, fort peu chargé de matières en suspension, du moins visibles à l'œil nu. L'augmentation du volume d'eau quotidien par unité humaine y est certainement pour beaucoup et ne laisse à ces eaux que bien peu de l'aspect que lui trouvaient les auteurs du début du siècle. Notons d'ailleurs que cette dilution du sewage, fait général, n'est pas favorable à une épuration biologique rapide et que, tout compte fait, ces eaux ne présenteraient guère moins de dangers qu'autrefois si les progrès de la chimiothérapie n'avaient réduit sensiblement le champ d'action des agents pathogènes.

Nous allons donc établir, pour chaque échantillon d'eau résiduaire servant à nos expériences, les principales caractéristiques chimiques et bactériologiques :

- Taux d'azote total.
- Taux d'urée.
- Nombre approximatif de germes, par cc.
- Heure de prélèvement.

L'azote total est évalué par la méthode classique de dosage de l'ammoniaque, après minéralisation sulfurique et distillation dans l'appareil de PARNAS. L'urée est dosée gazométriquement et le nombre de germes est obtenu par numération des colonies, après dilution et ensemencement sur gélatine en boîte de Pétri.

Attendu qu'il s'agit de traiter le sewage suivant les principes de la Verdunisation, nous allons employer un appareillage analogue à celui du chapitre précédent, en nous abstenant toutefois du passage d'air, puisque cette pratique amène une déperdition importante de chlore et n'a d'ailleurs généralement pas son équivalent exact dans un traitement réel.

Dans un grand flacon à large col, d'une capacité de 1.5 litre environ, stérilisé à l'autoclave, nous introduisons 1 litre de sewage « frais ». On adapte un agitateur mécanique auquel on peut imprimer divers rythmes, grâce à des démultiplifications convenables.

Nous allons ajouter progressivement du chlore jusqu'à ce qu'un ensemencement ne donne plus de culture positive. Ce mode opératoire diffère sensiblement de ceux que nous avons employés jusqu'à maintenant. Nous pouvons ainsi établir une sorte d'échelle des résistances des divers germes, ce qui implique la nécessité de poursuivre la chloration jusqu'à stérilité complète. Ce mode opératoire nous est également imposé par la difficulté de réaliser plusieurs essais simultanés dans des conditions strictement identiques, comme nous pouvions le faire avec les expériences en tubes.

Nous faisons donc appel à un traitement continu. La caractéristique qui doit en ressortir est moins un chiffre de chlore qu'un temps minimum pour obtenir la stérilité complète, en fonction d'un débit déterminé de chlore. Nos efforts doivent naturellement tendre à ramener ce délai à la durée moyenne

de séjour du sewage dans l'installation. Ceci étant, nous pouvons alors définir, en milligrammes par minute, la quantité d'agent bactéricide à introduire, sans interruption, dans le bac de traitement.

En bref, notre mode opératoire se résume ainsi :

— Ensemencement de deux gouttes de sewage non traité, dans un tube d'eau peptonée lactosée. Cette culture sert de témoin.

— Introduction de 1 ou 2 cc. d'eau de chlore titrée.

— Agitation ininterrompue pendant 10 ou 20 minutes.

— Arrêt de l'agitation, ensemencement de deux gouttes de sewage chloré, réintroduction d'un même volume de chlore et remise en marche de l'agitation.

L'opération est poursuivie sans interruption, aussi longtemps que l'on jugera nécessaire pour que l'un au moins des ensemencements accuse l'action du chlore. Après quelques tâtonnements, ce temps a été fixé entre deux et trois heures, suivant la vitesse d'introduction du chlore. Notons d'ailleurs que si l'apport de chlore n'est pas continu au sens littéral du mot, l'addition de petites quantités à intervalles fixes équivaut pratiquement à cela.

Nous avons d'ailleurs bien essayé cette façon d'opérer, au moyen d'une burette reliée par un tube de caoutchouc à une aiguille traversant le bouchon du flacon, mais les difficultés de réglage, tenant principalement aux variations de hauteur de la colonne liquide dans la burette et aux trépidations de l'appareil, nous ont fait préférer cette solution plus simple.

Essai I. — Echantillon prélevé à 20 heures, en été, par temps sec.

Azote total : 145 mg./litre. *Urée* : 70 mg./litre.

Germes : Environ 50.000 par centimètre cube.

Eau de chlore : 1 cc. = 3,55 mg. de chlore actif.

Agitation modérée : 250 tours-minute, environ.

<i>Temps, en minutes</i>	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120
<i>Volumes d'eau de chlore (en cc.)</i>	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
<i>Ensemencements :</i>													
a) Après 12 h. d'étuve . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+o	+o	+o	+o
b) Après 24 h. d'étuve . .	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

TABLEAU 19. — *Chloration du sewage.*

Nous constatons que le chlore ne manifeste son action qu'après 90 minutes de contact avec une quantité de chlore de 35 mg./litre et encore cette action ne se traduit-elle que par un retard apparent de la croissance des germes, visible seulement après 12 heures d'étuve. Après 24 heures d'étuve, la densité optique de ces cultures est sensiblement identique aux précédentes.

La quantité de chlore introduite équivaut pourtant au total, à 32 mg. par litre.

La résistance des germes à des doses aussi considérables, se manifeste encore après 24 heures de contact entre le sewage et le chlore — sans poursuivre l'agitation il est vrai. — L'ensemencement est toujours positif.

On pourrait croire que cette résistance anormalement élevée (si l'on s'en rapporte au chiffre de chlore trouvé pour le Colibacille, soit 3.5 à 4.5 mg. à pH 6.8 et pour un contact de 1 heure), est due à une consommation excessive du substrat. Il n'en est rien, puisque le sewage traité accuse, même après 24 heures de contact, une réaction fortement positive du chlore actif. La présence de celui-ci n'est donc pas une garantie inconditionnelle de stérilité, comme on a souvent tendance à la croire.

La seule explication possible est une résistance plus élevée de certains germes. En effet, dans les cultures correspondant au taux de chloration le plus élevé, nous ne retrouvons plus qu'une seule espèce que nous identifions sans peine comme étant *Bacillus subtilis*.

Pour des concentrations totales ne dépassant pas 17.5 mg. de chlore, nous retrouvons également, après réensemencement sur gélose, un diplocoque Gram-négatif, vraisemblablement saprophyte.

Enfin, nous ne retrouvons de Colibacille que dans la culture initiale, ce qui nous ramène sensiblement au chiffre de chlore trouvé en culture pure.

D'ailleurs, la prolifération de *Bacillus subtilis* tend nettement à étouffer le développement de tous les autres germes, à tel point que le Colibacille n'est pas toujours facile à mettre en évidence.

Essai 2. — Echantillon prélevé à 18 heures, en été, par temps sec.

Azote total : 151 mg./litre. *Urée* : 80 mg./litre.

Germes : environ 50.000 par cc.

Eau de chlore : 1 cc. = 4.18 mg./litre de chlore actif.

Agitation moyenne : 500 tours par minute, environ.

<i>Temps, en minutes.</i>	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180
<i>Volumes d'eau de chlore (en cc.) ..</i>	0	4	6	8	10	12	14	16	18	20
<i>Ensemencements :</i>										
a) Après 12 heures d'étuve	+	+	+	+	+o	+o	+o	+o	+o	+o.
b) Après 24 heures d'étuve	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

TABLEAU 20. — *Chloration du sewage.*

Les résultats obtenus dans cet essai sont à peu près identiques aux précédents : il faut 33,4 mg./litre, au total, et 80 minutes d'agitation, pour obtenir seulement un retard des cultures de 12 heures. Le dernier germe survivant est toujours *Bacillus subtilis*.

Essai 3. — Echantillon prélevé à 12 heures, en été, par temps sec.

Azote total : 122 mg./litre. *Urée* : 80 mg./litre.

Germes : environ 70.000 par cc.

Eau de chlore : 1 cc. = 4 mg. de chlore actif.

Agitation violente : 1.000 tours par minute, environ.

<i>Temps, en minutes</i> . . .	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180
<i>Volumes d'eau de chlore (en cc.)</i> . . .	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
<i>Ensemencements :</i>										
a) Après 12 h. d'étuve.	+	+	+	+	+	+o	+o	o	o	o
b) Après 24 h. d'étuve.	+	+	+	+	+	+	+	o	o	o

TABLEAU 21. — *Chloration du sewage.*

Nous parvenons ainsi, avec une dose de chlore considérable : 56 mg./litre, au total, et 2.20 h. d'agitation, à stériliser complètement le sewage.

L'agitation joue un rôle prépondérant : en effet, la plus forte dose de chlore de l'expérience précédente, avec une agitation moins violente, ne parvient pas au même résultat.

On ne doit pas davantage négliger le fait que l'action du chlore ne se produit que par contact effectif.

Une agitation énergique est la condition première d'une répartition homogène du chlore actif.



II. — CAS DES VIRUS.

LÉPINE et MARCENAC [4] ont étudié l'action des hypochlorites sur les matières fécales, dans le but précis de la destruction du virus de la Poliomyélite. Celui-ci est éliminé pendant très longtemps par les selles des malades : 123 jours, selon LÉPINE, SEDAILLAN et SAUTTER [39]. La résistance de ce virus est aussi très longue : 114 jours, selon LEVADITI, KLING et LÉPINE [39], dans les canalisations, à la température ambiante. Il supporte également des variations de pH considérables et n'est pas touché par les méthodes d'épuration biologique.

[39] D'après LÉPINE et MARCENAC. — Bull. Acad. Nat. Méd. : 132 : 262-266, 6-13 avr. 48.

D'après LÉPINE, en faisant agir 100 cc. d'une suspension à 25 % de chlorure de chaux, contenant 62 gr. par litre de chlore libérale, sur une prise d'essai de 2 grammes de matières fécales, on constate que le mélange « consomme » lentement le chlore. Cette consommation s'accélère après 6 à 8 heures, puis se ralentit à nouveau et il faut alors plus de 48 heures pour que la quantité de chlore disparue soit doublée.

En milieu acide constitué par 50 cc. de la suspension précédente et 50 cc. d'acide chlorhydrique au 1/10^e, il y a un dégagement de chlore gazeux et désintégration rapide des matières qui perdent leur aspect fécaloïde. La consommation est très accélérée.

En milieu alcalin constitué par 50 cc. de la même suspension, additionnée de 50 cc. de lessive de soude au 1/2, on note une consommation plus rapide qu'en milieu neutre, mais moins qu'en milieu acide.

Le temps jugé nécessaire pour détruire le virus de la poliomyélite est de 8 heures pour le chlorure de chaux seul et de 4 à 6 heures, en milieu acide ou alcalin.

Il est indispensable de diviser le « boudin fécal » pour assurer la pénétration du chlore actif; en effet, lorsqu'on dépose tel quel ce boudin dans la solution de chlorure de chaux, la portion centrale ne donne pas encore de réaction positive du chlore actif après 72 heures d'immersion.

Il faut donc recueillir les selles dans un récipient clos « muni d'un dispositif permettant l'agitation afin de les fragmenter en morceaux aisément pénétrables ». On ajoute alors la suspension de chlorure de chaux : un demi à trois quarts de litre, additionnés d'un égal volume de lessive de soude au demi, pour une selle. On agite et on laisse en contact au moins pendant six heures avant rejet à l'égout.

Ce procédé ne semble pas pouvoir être appliqué à l'ensemble des eaux résiduaires, en raison des quantités de chlore considérables qu'il exige.

Le comportement du virus de la poliomyélite à l'égard du chlore actif, montre que celui-ci résiste longtemps, aussi bien aux antiseptiques qu'aux conditions de vie défavorables. Nous avons vu également ce cas avec « *Bacillus subtilis* ».

III. — CAS DES BACTERIOPHAGES.

En dehors de la présence accidentelle de virus pathogènes, on trouve habituellement dans le sewage des organismes que l'on considère souvent comme des intermédiaires entre les virus et les bactéries. Nous voulons parler des bactériophages.

Etant donné leur utilité reconnue, il ne semble pas que la chloration du sewage doive avoir de bon effet en ce qui les concerne. Il y a donc intérêt à connaître leur comportement vis-à-vis du chlore.

Nous avons pu nous procurer, grâce à l'obligeance de M. le Docteur NICOLLE, de l'Institut Pasteur, deux souches de bactériophages, ainsi que les souches bactériennes homologues : il s'agit de *E. Coli* 36 et *E. Coli* Bordet.

Nous allons faire agir le chlore dans des conditions analogues à celles que nous avons déjà décrites pour le sewage.

La détection des bactériophages est effectuée d'après les techniques fournies par P. NICOLLE, dans le N° 9 de *Biologie Médicale* de 1949.

La résistance des germes est établie au moyen de la méthode mise en œuvre au chapitre 3.

La titration de la suspension de bactériophages accuse dans les deux cas, un chiffre approximatif de 2 milliards d'organismes par cc.

Nous allons opérer la chloration sur 500 cc. d'une dilution de la préparation de bactériophage au moyen d'eau physiologique, de telle sorte que deux gouttes de celle-ci contiennent environ 500 organismes. Cette chloration va être effectuée dans notre flacon à agitateur, sans passage d'air, suivant la méthode déjà décrite. Lesensemencements se font de 20 en 20 minutes, d'après la technique suivante :

Des boîtes de Pétri, contenant 20 cc. de gélose glucosée à 5 ‰ reçoivent 10 gouttes d'une culture de 12 heures, sur eau peptonée, du germe homologue. On répartit soigneusement, par va-et-vient, sur toute la surface de la gélose et on porte à l'étuve à 37° pendant 1 heure, pour permettre à la gélose d'absorber la culture et à l'eau en excédant de s'évaporer. Nous aurons ainsi, après un séjour convenable à l'étuve, un « tapis » bactérien continu.

Sur la gélose ainsi préparée, on dépose, au moment voulu, deux gouttes de la suspension de bactériophage essayé. On évite de disperser cet ensemencement et chaque boîte sert pour trois essais. On opère dans le sens des aiguilles d'une montre et, à raison de 20 minutes entre chaque prélèvement, une boîte correspond à une heure de chloration — sauf la première, évidemment, en raison de l'ensemencement témoin. — On porte alors à l'étuve à 37°, en laissant le couvercle des boîtes entr'ouvert pendant 1 heure, pour les raisons déjà exposées.

Les résultats que nous avons observés, se prêtent malaisément à une évaluation numérique. Les bactériophages semblent, en effet, progressivement atténués dans leur vitalité, sans qu'on puisse chiffrer exactement un pourcentage de destruction. Nous ne pouvons que signaler le moment où l'action bactériophagique s'affaiblit et celui où elle disparaît apparemment.

Temps, en minutes	0	20	40	60	80	100	120	140	160	180
Chlore actif introduit	1.55	3.10	4.65	6.20	7.75	9.30	10.85	12.40	13.95	15.50
(en milligr. pour 1.000 cc.)										
<i>Ensemencements des bactériophages :</i>										
1. E. Coli 36 ..	+	+	+	+	+	+	+	+o	+o	+o
2. E. Coli Bordet	+	+	+	+	+	+	+o	+o	+o	o
<i>Résistance du germe homologue (Ensemencements sur milieu liquide)</i>										
1. E. Coli 36 ..	+o	o	o	o	o	o	o	o	o	o
2. E. Coli Bordet.	o	o	o	o	o	o	o	o	o	o

TABLEAU 22. — Chloration des bactériophages.

Nous voyons, d'après ce tableau, que si la résistance des souches de colibacilles que nous avons employées n'est pas

supérieure à celle du germe que nous avons utilisé au cours du chapitre 3, la résistance des bactériophages est beaucoup plus élevée et peut être chiffrée à environ 10 fois celle du germe homologue.

On ne doit donc pas craindre exagérément l'effet du chlore sur ces organismes, sauf évidemment en cas de « surchloration » accidentelle. Ce fait est d'ailleurs généralement reconnu et on admet que la résistance des bactériophages aux antiseptiques est plus grande que celle des bactéries. Ce point était néanmoins à vérifier, au moins en ce qui concerne nos recherches.

DISCUSSION

Au terme de cette étude, il nous paraît nécessaire de faire le point, en résumant et en comparant les résultats que nous avons obtenus avec ceux de travaux antérieurs.

Il nous appartient également d'en faire ressortir l'importance pratique et les possibilités d'application.

Notre but était, rappelons-le, d'élucider, autant que faire se peut, la question de l'assainissement des eaux résiduaires, et de rechercher les meilleures conditions pour une chloration efficace de ces eaux dans le cas d'un hôpital de contagieux.

Nous avons passé en revue, un certain nombre de méthodes d'épuration biologique que l'on peut appliquer au sewage. Il ne semble pas que celles-ci puissent être utilisées avec bonheur, dans le cadre du traitement autonome des eaux usées d'un hôpital.

Les unes, comme les champs d'épandage exigent des surfaces considérables, que l'on ne peut trouver dans l'enceinte d'un établissement hospitalier urbain. De plus, toutes ces méthodes biologiques, doivent être réalisées à l'écart des habitations, en raison de leur voisinage, le plus souvent insalubre. Enfin, ces installations requièrent une surveillance absolument constante, entraînant des frais élevés qui ne les rendent justifiables que du traitement général des eaux résiduaires d'une agglomération.

Le seul procédé que l'on pourrait, à la rigueur, employer est celui de la fosse septique, combinée au besoin avec des « lits bactériens ». Toutefois, il est hors de doute que l'absence de surveillance, constitue un handicap énorme pour l'efficacité de cette méthode, et expose, par suite, à des accidents plus ou moins catastrophiques.

En l'état actuel de la science et de la technique, le chlore actif sous ses diverses formes, reste encore le moyen le plus simple et le plus sûr pour combattre la nocivité des sewages, par destruction de la flore pathogène.

La plupart des autres méthodes, ne semblent pas avoir dépassé le stade expérimental : rayons ultra-violets, ozone, formol. Les dérivés modernes, à base d'ammonium quaternaire, ont peut-être là des lettres de noblesse à conquérir, mais il n'est pas douteux que leur prix de revient très élevé, les écarte pour le moment d'un tel emploi.

Au contraire, le chlore actif sous ses diverses formes est d'un prix de revient modique, d'un maniement relativement aisé, et sa valeur bactéricide ne soulève guère de démenti.

Quoiqu'il en soit, nous avons le choix entre divers procédés de chloration : nous pouvons utiliser le chlore en nature ou les hypochlorites.

Nous verrons un peu plus loin, en détail, comment l'élévation du pH défavorise l'action bactéricide du chlore. Il semble donc que le chlore en nature ait, sur ce point, le pas sur les hypochlorites.

En fait, il faut tenir compte de ce que le sewage est un milieu tamponné, et que les hypochlorites, aux doses bactéricides utiles, apportent trop peu d'alcalinité pour modifier beaucoup le pH. Par contre, le chlore en nature, présente divers inconvénients :

Il s'échappe facilement du mélange, surtout par agitation, et il faut en employer, en définitive, des quantités égales sinon supérieures à celles des hypochlorites.

L'installation de traitement par le chlore en nature, est le plus souvent complexe et coûteuse. C'est une solution « riche », assez en honneur dans les pays Anglo-Saxons, et qui ne convient bien que pour des besoins importants : traitement des eaux usées d'une grande ville. Le fonctionnement est délicat et exige une surveillance constante. Les émanations inévitables ne sont pas sans danger et les bouteilles à chlore elles-mêmes peuvent donner lieu à des accidents. Ce point est à considérer, dans le cas d'un hôpital où l'on dispose rarement d'un espace considérable.

La méthode de DUYK-HOWATSON au « ferrochlore » nous semble utiliser ingénieusement les hypochlorites puisqu'ils se

manifestent sous forme d'acide hypochloreux naissant, donc au maximum de l'activité bactéricide. Il reste à craindre cependant que le « collage » du milieu par l'hydrate ferrique ne protège un certain nombre de germes contre l'action bactéricide.

La méthode de BERGE, au peroxyde de chlore nous paraît assez difficile à réaliser, et la valeur bactéricide de ce peroxyde n'est assurément pas supérieure à celle du chlore ordinaire.

C'est donc à une méthode s'inspirant du principe de la Javellisation des eaux de consommation que nous jugeons préférable de nous adresser.



Il nous faut donc déterminer une quantité minimum de chlore actif à introduire dans un volume donné de sewage.

Il est évident que l'on ne peut transposer telle quelle la technique de Javellisation des eaux de consommation et qu'il faut tenir compte des caractères spéciaux d'un substrat comme le sewage.

En effet, les eaux résiduaires sont riches en matières organiques diverses, dont les plus intéressantes semblent être les protides et l'urée, en raison de leurs réactions chimiques avec le chlore actif.

Nous avons trouvé, en moyenne, dans un sewage d'hôpital, 200 mg./litre d'azote organique et 50 mg./litre d'urée. Ces chiffres sont assurément inférieurs à ceux que trouvaient les auteurs du début du siècle, et ceci est dû, sans doute, à l'augmentation du volume d'eau distribué au consommateur. Il n'en reste pas moins que les chiffres que nous avons trouvés, sont très supérieurs à ceux des eaux de consommation.

Afin de nous rendre compte de l'action chimique du chlore sur les matières organiques azotées, nous avons conduit une expérimentation systématique, sur une solution de peptone standard et sur une solution d'urée.

Nous avons recherché les méthodes de dosage du chlore les plus propres à nous donner des renseignements fidèles, soit dans le cas d'une expérimentation sur des solutions définies, soit dans le cas du sewage au cours du traitement bactéricide.

Pour le sewage, nous avons envisagé les diverses méthodes colorimétriques. La méthode à l'orthotolidine, en particulier, bien adaptée au dosage du chlore dans les eaux de consommation, nous semble d'une précision illusoire pour les eaux résiduaires. Celles-ci sont, en effet, toujours plus ou moins troubles et colorées. On peut nous objecter la possibilité d'une filtration, au besoin sur bougie, mais que reste-t-il alors de l'individualité du sewage ?

Le meilleur moyen de contrôle du chlore actif dans le sewage, serait encore la mesure du potentiel d'oxydo-réduction, pour autant que l'on puisse réaliser des appareils assez sensibles. On n'éviterait d'ailleurs pas complètement l'écueil de compter pour chlore actif, des composés plus ou moins dégradés, n'ayant pas la même valeur stérilisante.

Pour l'expérimentation chimique sur des solutions définies, nous avons porté notre choix sur la méthode iodométrique simple, sans acidification. Les raisons qui nous font préférer cette méthode sont les suivantes :

Le procédé est simple et rapide, et permet d'effectuer des dosages en série, dans un ordre chronologique défini.

Il ne modifie pas le pH du substrat, tel qu'il est avant introduction du chlore actif, à la différence des méthodes à l'anhydride arsénieux, dont l'augmentation de valence, augmente aussi la capacité acide.

Nous avons pu aussi effectuer un dosage séparé du chlore labile fixé par les matières organiques azotées.

Le principe consiste à faire disparaître le chlore libre en excès, au moyen d'une solution alcoolique de phénolphtaléine, en milieu tamponné par l'acétate de sodium. On dose ensuite par iodométrie, une certaine quantité de chlore résiduel que nous avons démontrée appartenir à des composés labiles du type des chloramines.

On peut se demander pourquoi des essais de l'action chimique du chlore n'ont pas été faits sur des solutions ou des suspensions de glucides et de lipides. Nous avons constaté, en fait, que ces corps ne réagissent pratiquement pas avec le chlore actif, dans les conditions où nous opérons.

Il n'est pas venu à notre connaissance qu'une telle expérimentation ait été déjà réalisée dans le même esprit. Nous ne pouvons opposer nos résultats, ni à ceux de FROBOESE [25],

dont le « chiffre de chlore » (*Chlorzahl*), est obtenu à chaud, ni à ceux de RUDOLFS et ZIEMBA [26] dont le « demande de chlore » (*Chlorine-demand*) est un test-limite basé sur la quantité de chlore qu'il faut ajouter au sewage pour qu'il en reste au moins une trace après 10 minutes de contact.

Nous avons constaté les faits suivants :

— La fixation labile du chlore est beaucoup plus rapide que la fixation irréversible dans une solution de peptone.

La fixation irréversible augmente avec le temps. Après 1 heure de contact, la vitesse de réaction est à peu près nulle, bien qu'il reste encore une quantité importante de chlore libre dans le milieu.

La fixation labile atteint très vite un maximum. Ce chlore diminue ensuite lentement, comme s'il constituait une réserve lentement absorbée pour les besoins de la fixation irréversible.

— Les pouvoirs de fixation labile et irréversible augmentent avec la concentration du chlore libre pour un temps de contact uniforme de 1 heure.

— L'abaissement du pH de la solution de peptone favorise le pouvoir de fixation labile et surtout de fixation irréversible.

Le comportement du chlore fixé labile s'explique facilement par le fait que la réaction est équilibrée et réversible. L'interprétation de la réaction de fixation stable est plus difficile, car, si elle est irréversible, elle n'est ni instantanée, ni totale.

On sait que le chlore moléculaire dissous, réagit sur l'eau suivant l'équilibre :



Admettons que la peptone ne puisse « consommer » que le chlore moléculaire suivant la formule :



Nous voyons que l'acide libéré en 2, tend à transformer en 1, l'acide hypochloreux en chlore moléculaire, qui sera à son tour fixé.

La réaction devrait donc être rapide et totale : c'est le cas général de l'action des halogènes sur les noyaux phénoliques.

Mais la peptone constitue un milieu tampon, par ses fonctions aminées : par conséquent, une partie de l'acidité ionique libérée en 2, est retenue par ce pouvoir tampon; l'acide hypochloreux n'est pas retransformé en chlore moléculaire, et la fixation s'arrête, bien que la molécule de peptone ne soit pas saturée et qu'il y ait encore beaucoup de chlore actif résiduel.

Les fonctions amine, joueraient ainsi le rôle, non seulement de réserve de chlore, mais aussi de réserve d'acide. Celle-ci permet d'ailleurs à la totalité du chlore fixé labile de déplacer l'iode de l'iodure de potassium, sans apport acide supplémentaire, ce que nous avons pu constater.

Ceci explique également l'influence du pH, qui tient sous sa dépendance les concentrations relatives des diverses formes du chlore actif : chlore moléculaire, acide hypochloreux, ions et molécules hypochlorite.

Cette théorie permettrait d'expliquer assez logiquement pourquoi la réaction de fixation est irréversible, mais non totale.



Le but essentiel de nos travaux est la stérilisation des agents pathogènes dans les eaux résiduaires. Or, celles-ci contiennent de très nombreux germes, dont beaucoup sont inoffensifs. La question qui se pose est de savoir s'il faut détruire tous les germes du sewage, pour avoir la certitude de son innocuité ou seulement les éléments dangereux.

Pour ce dernier cas, nous avons conduit une expérimentation sur un germe défini, le colibacille, souvent employé comme témoin de la contamination fécale des eaux.

Pour l'autre cas, nous nous sommes efforcés de traiter le sewage par chloration, jusqu'à stérilité complète.

Nous avons employé une souche de colibacille d'origine fécale. Afin d'éviter l'interférence de substances organiques étrangères, nous avons préparé des suspensions pures de ce germe. Nous utilisons deux techniques de contrôle de l'action stérilisante, l'une par numération des colonies sur gélose glucosés, après 48 heures d'étuve à 37°, l'autre par réensemencement sur milieu liquide.

Nous avons soumis la suspension bactérienne à l'action bac-

téricide du chlore pendant 1 heure. Le choix de ce temps nous a été dicté surtout par des considérations théoriques reposant sur l'analogie qu'il peut y avoir entre la fixation irréversible par une matière protidique, et la stérilisation d'un agent bactérien.

A pH 6.8, avec la même technique sur gélose, nous trouvons une L. D. 100 voisine de 8 à 9 mg./litre. Avec la technique sur liquide, la L. D. 100 est comprise entre 3.76 et 4 mg./litre.

Ces chiffres sont, apparemment, très différents. Toutefois on note qu'une concentration voisine de 4 mg./litre opère déjà une stérilisation de 97 %, par la technique sur gélose. La différence est donc plus apparente que réelle. La technique sur liquide nous paraît ainsi avoir le pas sur la technique sur gélose, dont les dernières colonies survivantes nous semblent quelque peu sujettes à caution.

L'influence d'une agitation modérée, telle que nous l'avons réalisée avec l'appareil de КАHN, ne nous a pas semblé très intéressante. Mais il faut tenir compte du fait que des secousses imprimées à des tubes à essais de 20 cc., bouchés au coton et contenant 10 cc. de liquide, n'agitent pas celui-ci avec une grande énergie.

L'influence de l'hyposulfite de soude ne nous est pas apparue beaucoup plus probante. Comme la plupart des auteurs qui ont fait des essais analogues, nous avons pu constater une reviviscence, au demeurant assez faible, des germes soumis successivement à l'action du chlore et à celle de l'hyposulfite.

On pourrait peut-être invoquer, pour expliquer ce phénomène, le double comportement des matières azotées à l'égard du chlore. Nous avons pu d'ailleurs nous assurer, avec des concentrations de chlore élevées, d'une fixation labile et d'une consommation irréversible, par la suspension bactérienne. La consommation étant relativement lente et l'hyposulfite « reprenant » le chlore labile, il est possible, qu'à un moment défini de la stérilisation, un certain nombre de germes ne soient pas touchés irréversiblement par le chlore, et puissent ainsi être ramenés à leur état initial.

La notion d'une analogie entre la stérilisation définitive d'un germe, et la fixation irréversible par la solution de peptone, nous est confirmée curieusement par l'étude de l'influence du pH sur l'action stérilisante du chlore : de même que l'élévation

du pH réduit le pouvoir de fixation irréversible, il réduit le pouvoir bactéricide du chlore; ceci semble dû à la diminution de la fraction de chlore utilisable dans l'un et l'autre cas.

Certains auteurs n'hésitent pas à affirmer que l'acide hypochloreux ou le chlore moléculaire sont les seuls agents bactéricides car l'augmentation du pouvoir stérilisant d'une solution de chlore avec l'abaissement du pH, serait exactement proportionnelle aux variations des concentrations relatives de l'acide hypochloreux (HOLWERDA [36]).

Nous ne pouvons nous opposer à cette opinion, d'après les résultats que nous avons obtenus. De plus, nous avons pu nous assurer qu'une solution d'hypochlorite de pH élevé (11.5), dont nous neutralisons le chlore « immédiatement actif » par le couple iodure-hyposulfite, est pratiquement dépourvue d'action bactéricide : une concentration de 1 gramme par litre, ne détruit pas le colibacille, quelle que soit la durée de contact.

Il y a donc intérêt à diminuer autant que possible le pH des eaux au cours de la chloration.

Nous avons constaté que le pH du sewage « frais », est assez voisin de la neutralité (pH 7.35). Le pouvoir tampon du milieu absorbant facilement l'alcalinité introduite par les doses d'hypochlorite, bactéricides, il semble que l'on ait moins à se soucier de provoquer l'abaissement de ce pH, que d'éviter son augmentation sous l'influence des fermentations.

Nous avons vu que le sewage fermente rapidement, en donnant naissance à des produits ammoniacaux et sulfurés. Les premiers élèvent le pH et consomment le chlore, à la différence de l'azote de l'urée et des protides dont ils sont issus. Les produits sulfurés consomment également le chlore actif.

Dans l'ensemble, ces fermentations sont donc préjudiciables à l'action du chlore : il faut donc l'introduire aussitôt après l'émission de sewage.

*
**

En ce qui concerne le temps de contact minimum entre le chlore et les bactéries, nous avons vu que si l'on prolonge le contact pendant 12 heures, le chiffre de chlore nécessaire n'est plus que de 2.5 mg./litre, contre 4.5 mg./litre pour 1 heure de contact. La diminution est donc loin d'être considérable : l'économie de chlore que l'on pourrait réaliser est insignifiante, d'autant qu'il faut prévoir une marge de sécurité.

Cependant, il faut tenir compte de la consommation irréversible par le substrat inerte et de la formation de chlore fixé labile.

Nous avons vu que le chlore consommé par les protides inertes est perdu pour l'action bactéricide, fait confirmé par RUDOLFS et ZIEMBA [26].

Par contre, les composés à chlore labile ont une activité stérilisante réelle, mais notablement plus lente que celle du chlore libre. Il est probable que l'urée du sewage se combine à une partie du chlore introduit : il est donc utile de prolonger le contact aussi longtemps que possible.

Il est évident que le taux de chloration n'est pas obligatoirement représenté par « la plus petite dose nécessaire et suffisante ». Cette notion est indispensable comme base de départ, mais il faut prévoir aussi une marge de sécurité.

Cette marge peut être apportée par un supplément de chlore actif, mais à concentration égale, il y a un meilleur moyen pour augmenter l'efficacité du traitement : c'est l'agitation du mélange.

Au cours des divers essais que nous avons réalisés, nous avons constaté que, seul, l'emploi d'un engin rotatif donne de bons résultats.

L'influence de cette agitation est considérable : pour la suspension pure de Colibacilles, il faut à peine plus de 1 mg. de chlore, là où il en fallait précédemment plus de 4.5 mg. Au cours de nos essais de chloration du sewage, nous n'aurions jamais obtenu de résultat positif, sans l'agitation très énergique que nous avons réalisée. Et ce, en dépit de doses de chlore considérables.

Il y a donc là une action comparable à celle de la « Verdunisation » des eaux de consommation. PILLEMENTS et TECHOUËYRES [11], en admettant également la possibilité et citent les chiffres suivants :

Pour 1/10 de mg./litre :	{	Avec agitation : 66 % de destr.
	{	Sans agitation : 11 % —
Pour 1 mg./litre :	{	Sans agitation : 26 % —
	{	Avec agitation : 83 % —

Nous estimons que cette agitation apporte un coefficient de sécurité bien supérieur à celui d'un excès de chlore.



Il se pose une question évidemment fondamentale : doit-on stériliser complètement le sewage ou faut-il seulement détruire la flore pathogène, et quelles sont les quantités de chlore nécessaires dans l'un ou l'autre cas ?

Si nous admettons que le Colibacille présente la même sensibilité au chlore que l'ensemble des pathogènes, nous avons vu qu'il faut environ 3.5 à 4.5 mg/litre de chlore actif, pour une destruction complète, avec un contact de 1 heure à la température ambiante et à pH 6.8.

Si nous voulons stériliser complètement le sewage, il nous faut introduire 8 mg. de chlore actif par 20 minutes et pour 1 litre de sewage, pendant 2,20 heures - au total 56 mg. Encore ce résultat n'est-il atteint qu'au prix d'une agitation très violente et il ne traduit pratiquement que la destruction d'un germe très résistant : *B. subtilis*.

Ces dernières conditions sont réalisables au laboratoire. Nous restons cependant sceptiques quant à la possibilité d'une extension pratique équivalente.

Cette solution est d'ailleurs discutable :

— Elle est dispendieuse : il faut près de 10 fois plus de chlore que lorsqu'on ne recherche que la destruction des pathogènes.

— Son opportunité n'est pas évidente, puisque ce sont seulement ceux-ci qui sont incriminés.

— Elle nuit gravement aux germes épurateurs ainsi qu'aux bactériophages : les déchets organiques mettront donc beaucoup plus de temps à disparaître.

— Elle nécessite aussi une installation de « déchloration » lorsque le sewage est rejeté dans un cours d'eau.

On ne peut donc l'appliquer qu'à des cas restreints : nous en avons une illustration dans le cas des selles de poliomyélitiques.

La diversité des indications des auteurs est étonnante. Nous ne pouvons songer à citer leurs chiffres, mais seulement quelques-uns qui peuvent se comparer aux nôtres dans une certaine mesure.

RUDOLFS et ZIEMBA [26] ajoutent au sewage des proportions définies de la « chlorine demand ». La concentration de chlore correspondante n'est pas explicitement indiquée : la « chlorine demand » est la quantité de chlore que l'on doit ajouter au sewage pour que l'on en retrouve au moins une trace après 10 minutes. Ils ensemencent après dilution :

Sur gélose citratée : (Agar citrate médium).

Avec 100 % de la « demande » et 10 minutes de contact : 98.6 % de destruction.

Sur gélose au bouillon lactosé :

Avec 90 % et 10 minutes : 99.9 %.

Avec 100 % et 7.5 minutes : 99.9 %.

Sur gélose nutritive :

Avec 100 % et 10 minutes : 99.8 %.

COSTIGAN [40] opère sur le mélange de 9 cc. de bouillon de culture, 1 cc. de lait et 100 cc. de solution d'hypochlorite.

Cas de E. typhosa :

Hypochlorite très alcalin (*of high alkalinity*).

	Pourcentages de destruction :	
	Milieu solide	Milieu liquide
50 mg./litre; pH 9.09; contact 3 minutes	99.9	99.99
100 mg.; pH 9.34; 5 minutes	100	99.99
200 mg.; pH 10.29; 3 minutes	100	99.99

Hypochlorite peu alcalin (*of low alkalinity*).

50 mg.; pH 8.43; 5 minutes	100	99.99
100 mg.; pH 8.53; 5 minutes	100	99.99
200 mg.; pH 8.85; 3 minutes	100	99.99

Cas de St. aureus :

Hypochlorite très alcalin.

50 mg./litre; pH 9.09; contact 10 min.	99.99	99.99
100 mg.; pH 9.34; 5 minutes;	99.99	99.99
200 mg.; pH 8.85; 3 minutes	99.99	99.99

Hypochlorite peu alcalin.

50 mg.; pH 8.43; 10 minutes	99.99	99.99
100 mg.; pH 8.53; 5 minutes	99.99	99.99
200 mg.; pH 8.85; 3 minutes	100	99.99

COSTIGAN [40] détermine aussi la résistance de *M. tuberculosis* aux hypochlorites de faibles et de fortes alcalinités.

L'action destructrice du chlore est établie en injectant à un cobaye de 250 grammes, dans la région du ganglion inguinal gauche, environ 20 millions de germes traités successivement par l'hypochlorite et l'hyposulfite de soude.

A pH 8.35, une solution d'hypochlorite contenant 50 mg./litre de chlore actif, détruit les germes en 2.5 minutes à 50°, en 1 minute à 55° et en 1/2 minute à 60°. A pH 9.04, 200 mg. de chlore actif les détruisent en 1 minute à 50, 55 ou 60°.

Pour DIENERT et ETRILLARD, le chlore nécessaire pour stériliser 1 cc. d'une suspension contenant 1 million de germes est le suivant [41] :

Colibacille	: 0.1 mg./litre
Eberth	: 0.1 mg./litre
Flexner	: 0.18 mg.
Shiga	: 0.15 mg.
Enterocoque	: 0.25 mg.
Lev. de bière	: 0.30 mg.
<i>B. subtilis</i>	: 1 mg.
Amibes	: 1 mg.
Bacteriophages	: 8 mg.

[40] COSTIGAN. — J. Bact., 34 : 1-8 juil. 1937 et 32 : 57-63, juillet 1936.

[41] DIENERT et ETRILLARD. — Compt. rend. Acad. d. sc., 185 : 621-623, 26 sept. 1937.

[42] TONNEY et GREER. — Am. J. Pub. Health., 18 : 1259-1263, Octobre 1928.

On trouve cependant, disent ces auteurs, dans les eaux superficielles, des germes qui résistent à plus de 3 mg./litre de chlore actif.

TONNEY et GREER [42], établissent par une technique de numération sur gélose, la sensibilité au chlore de suspensions contenant en moyenne 100 à 300 germes par cc., pour un contact de 15 à 30 secondes.

0.1 mg./litre :

(Les chiffres entre parenthèses, indiquent le nombre de souches essayées).

S. typhi (21). Para A (6). Para B (6). *B. dysentericus* (8). *St. albus* (4). *B. proteus* (2). *Cl. welchii* (6). *Br. melitensis* (1). *B. enteritidis* (4). *Pneumococcus* (4).

0.15 mg.

C. diphthericum (12). *Str. scarlatinae* (6). *Strepto. fecalis* (2). *St. aureus* (4). *Str. hemolyticus* (10).

0.20 mg.

Pneumococcus (4).

0.25 mg.

Str. hemolyticus (3). *B. pyocyaneus* (6). *C. diphtheriae* (27). *Achromobacterium viscosum* (8). *Str. scarlatinae* (14). *Str. fecalis* (11). *B. sui-pestifer* (8). *B. prodigiosus* (6). *Br. abortus* (1). *St. aureus* (4). *Str. hemolyticus* (11). *Str. morbilli* (2). *St. albus* (4). *Pneumococcus* (5). *E. coli (fecal)* (9). *E. coli* (10).

Dans une autre publication, les mêmes auteurs citent encore les chiffres suivants : [34]

0.1 mg/litre.

Aerobacter aerogenes (28). *B. fecalis alcaligenes* (5). *N. gonorrhoeae* (7). *N. catarrhalis* (3). *Meningococcus* (25). *B. mucosus capsulatus* (4). Bactérie indéterminée du sewage, ne fermentant pas le lactose (18). *V. cholerae* (3).

0.15 mg.

Aerobacter aerogenes (9). Bactérie indéterminée, trouvée dans l'eau et ne fermentant pas le lactose (14). *E. coli* (5). *Meningococcus* (1).

0.20 mg.

Aerobacter aerogenes (4). Bactérie indéterminée trouvée dans l'eau et ne fermentant pas le lactose (3).

Pour les espèces sporulées, les chiffres s'établissent ainsi :

I. — Espèces anaérobies :

1 à 2.5 mg.

Cl. welchii (25).

15 mg.

Cl. tetani (1). *Cl. botulinum* (1). *Cl. chauvei* (1).

17.5 mg.

Cl. sporogenes (1). *Cl. botulinum* (4).

18 mg.

V. septicus.

20 mg.

Cl. sporogenes (1).

25 mg.

Cl. botulinum (2). *Cl. tetani* (1).

30 mg.

Cl. sporogenes (1).

35 mg.

Cl. chauvei (1). *B. œdematiens* (1).

40 mg.

Cl. tetani (1).

II. — Espèces aérobie :

18 mg.

B. aerosporus (26).

45 à 65 mg.

B. anthracis (8).

66 à 85 mg.

B. anthracis (5). *B. megatherium* (4).

86 à 100 mg.

B. anthracis (5). *B. mesentericus* (1).

135 à 150 mg.

B. mesentericus (1). *B. brevis* (2). *B. cereus* (2).

160 mg.

B. subtilis (4).

190 mg.

Spore du sewage non identifiée (6).

200 mg.

B. vulgatus (1).

Les concentrations nécessaires pour détruire les spores, montrent suivant l'expression même des auteurs, la « futilité » d'espérer leur destruction dans une phase quelconque de l'assainissement des eaux.

Il est très malaisé de tirer une conclusion d'ensemble nette, des chiffres précédents : les techniques elles-mêmes peuvent difficilement se comparer. Toutefois, si l'on s'en rapporte aux données de DIENERT et ETRILLARD, et de TONNEY et GREER, nous voyons que les principaux germes des maladies « hydriques » sont tués par 0.1 à 0.2 mg/litre en moyenne. Il faut noter que la concentration des germes est de 1 million par cc. pour les premiers auteurs, et de 100 à 300 pour les seconds !

Rappelons que nous avons trouvé qu'il faut environ 3.5 à 4.5 mg./litre de chlore actif pour détruire complètement une émulsion de colibacilles, avec un contact de 1 heure à pH 6.8 et à la température du laboratoire.

En ce qui concerne les bactériophages, nous avons noté que leur résistance à l'égard du chlore est sensiblement plus forte que celle des germes homologues, bien que les résultats que nous avons obtenus ne soient pas d'une netteté parfaite. Nous avons pu constater d'ailleurs que DIENERT et ETRILLARD, classent les bactériophages — sans indications spécifiques d'ailleurs — au sommet de leur échelle de résistance relative au chlore actif.

Ceci pourrait être considéré comme un aspect particulier

d'une règle générale qui veut que les germes les mieux adaptés aux conditions biologiques de substrat les plus défavorables, soient aussi plus résistants aux divers agents antiseptiques.

※
※※

Comment peut-on concevoir, dès lors, une installation de chloration des eaux usées d'un hôpital ?

1. — Il y a intérêt à prolonger la durée de contact entre le chlore et le sewage.

Le problème n'est pas difficile à résoudre dans le cas d'une installation de petite importance, et on peut prévoir une bache de traitement recevant le débit de 3 ou 4 heures ou même plus. On pourrait aussi combiner plusieurs bâches de volume plus réduit, reliées les unes aux autres par des siphons de large section et munis d'un corps poreux (coke), pour augmenter la surface de contact.

2. — Il y a intérêt à abaisser le pH du mélange, et il faut éviter en tout cas son élévation.

On peut concevoir une action sur le pH en insufflant dans le sewage des gaz de combustion de chaudière, riches en anhydride carbonique. Les fumées seraient débarrassées, d'autre part, d'une partie de leurs suies. L'échange thermique entre les gaz de combustion et le sewage chloré, serait certainement favorable à l'action stérilisante du chlore et supprimerait en tout cas le risque de gel.

On évitera les fermentations anaérobies qui élèvent le pH en réduisant le plus possible le trajet des conduites qui amènent le sewage, fraîchement émis, dans la bache de traitement et la déclivité de celles-ci doit être assez forte pour éviter toute stagnation. On a préconisé récemment l'emploi de béton moulé sous vide pour ce type de conduite, afin d'éviter toute anfractuosité du ciment. Cette technique pourra également être employée avec avantage dans la construction des bâches elles-mêmes, et réduit les risques de fissures et d'infiltration des eaux usées dans les terrains sous-jacents.

3. — Les appareils distributeurs et les réservoirs d'hypochlorite devront être protégés contre la corrosion. On préconi-

sait naguère le grès vernissé et l'ébonite. Les progrès actuels de la technique des matières plastiques permettent d'envisager l'emploi de revêtements hydrofuges remarquablement résistants.

4. — L'agitation du sewage chloré doit être réalisée avec beaucoup de soins, au moyen d'une pompe centrifuge ou d'une turbine à grand débit, et sera poursuivie pendant toute la durée de la chloration. Nous n'hésitons pas à affirmer que l'efficacité du traitement bactéricide est directement liée à la bonne exécution de cette opération.

5. — Il sera nécessaire d'introduire, pour chaque litre de sewage qui entre dans la bêche de traitement, 4 à 5 mg. de chlore actif, sous forme d'hypochlorite de soude ou de chaux. Ces chiffres peuvent paraître tant soit peu excessifs à côté de ceux des auteurs que nous avons cités. Il ne faut toutefois oublier ni la notion de marge de sécurité indispensable, ni le fait que le sewage est un milieu riche en matières organiques et très fortement souillé.

6. — Il faut proscrire absolument l'irruption des eaux de ruissellement dans la bêche de traitement car elles perturbent gravement le fonctionnement de l'installation.

CONCLUSIONS

Le problème que pose l'évacuation des eaux résiduaires d'un hôpital de contagieux, implique leur désinfection avant leur rejet à l'extérieur.

1. -- L'examen des divers dispositifs assurant l'épuration biologique des sewages conduit à écarter ce processus, ou insuffisant, ou d'installation impraticable.

2. -- La chloration des sewages apparaît actuellement la seule méthode d'épuration chimique utilisable. Son application exige le calcul des quantités de chlore actif convenables et telles que le rejet à l'extérieur dans les cours d'eau puisse être toléré.

3. -- La détermination de la quantité minima de chlore actif doit tenir compte de la constitution chimique du sewage, de son état physique, de son débit. Parmi ses constituants naturels organiques, les protides et leurs dérivés sont « consommateurs » de chlore actif, soit par combinaison irréversible, soit par fixation labile du type des chloramines.

Pour doser le chlore actif immédiatement utilisable (Chlore dissous et acide hypochloreux), nous avons adopté la méthode iodométrique sans acidification préalable. Afin de connaître la quantité de chlore fixé labile, nous avons établi une méthode comportant l'addition de solution alcoolique de phénolphtaléine pour fixer le chlore libre présent. Le chlore labile est ensuite dosé par iodométrie, en présence d'acétate de sodium tampon. La différence entre la quantité de chlore actif initial et la quantité de chlore résiduel, permet de connaître la quantité de chlore actif fixé irréversiblement.

Les dosages systématiques effectués sur une solution de peptone standard soumise à l'action de l'eau de chlore préparée extemporanément, donnent lieu aux constatations suivantes :

— La fixation labile du chlore sur les protides est presque instantanée, alors que la combinaison irréversible est progressive dans le temps.

— Entre certaines limites, la fixation labile et la combinaison irréversible sont proportionnelles à la concentration de chlore. Il en est ainsi également pour l'urée.

— La combinaison irréversible du chlore avec les protides, en fonction du pH, très marquée dans la zone acide, diminuant à peine de pH 2.1 à pH 7.3, décroît très rapidement dans la zone alcaline avec l'élévation du pH.

Le contrôle chimique de la chloration effectué sur un échantillon de sewage de l'Hôpital des contagieux de Lyon, dont le pH est assez constant et au voisinage de 7.3 et de faible teneur en azote organique — 150 à 200 mg./litre — révèle une fixation irréversible de chlore actif de l'ordre de 90 milligr. par litre en 1 heure.

4. — L'objectif essentiel de la chloration du sewage étant la stérilisation des germes pathogènes, nous avons adopté comme moyen d'étude de l'action microbicide de la chloration les éléments suivants :

— Nous avons retenu le Colibacille comme témoin de la contamination dont nous avons isolé une souche à partir de selles de typhiques. Nous avons utilisé des cultures de 8 heures en eau peptonée, qui sont alors centrifugées et dont le sédiment lavé après centrifugation est remis en suspension dans l'eau physiologique.

— La suspension bactérienne est soumise à l'action de l'eau de chlore pendant une heure.

— Le contrôle de l'action stérilisante a été réalisé dans une première série d'essais par numération des colonies sur gélose glucosée après 48 heures d'étuve à 37°.

La dose de chlore actif stérilisante au pH 6.8 (D. L. 100) est voisine de 8 à 9 mg./litre. Elle est à peine abaissée par agitation modérée (Agitateur de Kahn), ou par déchloration à l'hypo-sulfite avant repiquage.

— Dans une 2^e série, nous avons cherché par réensemencement du Coli chloré en eau peptonée lactosée, à déterminer la concentration de chlore arrêtant la croissance du germe.

L'activité du chlore actif est la plus élevée aux pH bas, et décroît régulièrement en fonction de l'élévation du pH : D. L. 100 = 3.76 mg./litre à pH 4.25; 8.46 mg./litre à pH 8.6; pour être inefficace aux pH élevés : 1072 mg./litre à pH 11.5. A pH 6.8, la concentration inhibitrice en chlore actif est comprise entre 3.76 et 4.7 mg./litre.

L'hyposulfite additionné comme déchlorant de l'émulsion bactérienne chlorée, paraît provoquer une reviviscence bactérienne, mais assez minime.

5. — La notion de temps de contact minimum entre agent pathogène et chlore actif, nous paraît résumée dans le fait que l'action inhibitrice du chlore actif est surtout marquée au cours de la première heure, l'écart étant peu considérable entre les doses minima active en 2 heures et en 12 heures.

Le chlore fixé d'une façon labile sur les protides ou même l'urée, a une action plus faible que les quantités correspondantes de chlore actif, mais plus prolongée dans la mesure où il est libéré par dissociation de la molécule chloraminée.

6. — Les hypochlorites commerciaux, à peu près inefficaces aux pH élevés, se révèlent au voisinage de la neutralité, d'une activité voisine de celle du chlore aux mêmes pH. Leur addition aux doses minima actives, à des milieux tamponnés tels que le sewage en modifie très peu le pH.

7. — Le succès de la « verdunisation » des eaux potables, invite à étudier le rôle adjuvant de l'agitation énergique dans la chloration du milieu microbien.

Sur les cultures de Colibacilles soumises, en cours de chloration, à une agitation violente, nous avons constaté un accroissement marqué de l'action inhibitrice, toutes les conditions étant égales d'ailleurs. La dose minima active de chlore, probable à 1 mg./litre, est nette à 3 mg./litre malgré les pertes de chlore par entraînement.

8. — Le sewage hospitalier, soumis systématiquement à la chloration sous agitation n'a pu être stérilisé qu'avec des doses élevées de chlore actif, voisines de 64 mg./litre et déjà amoindries par l'agitation.

Cependant le Colibacille a disparu des premières cultures, à des concentrations en chlore très voisines de celles qui sont

inhibitrices en culture pure. Par contre, certains germes tels que *B. subtilis* se révèlent très résistants.

9. — Nous avons étudié le comportement à la chloration des bactériophages des souches *E. coli* 36 et *E. Coli* Bordet en eau physiologique sous agitation. Les cultures de bactériophages chlorés étaient ensuite essayées sur des cultures des germes homologues sur gélose glucosée, après 12 heures d'étuve à 37°.

Le bactériophage de la souche « *E. coli* Bordet » est tué par la concentration de chlore actif de 15 mg./litre, à laquelle résiste le phage de *E. coli* 36. Les germes homologues se révèlent d'ailleurs d'une sensibilité un peu plus grande que le Colibacille que nous avons isolé au début de notre travail.

*
**

En résumé, on peut concevoir la désinfection d'un sewage d'Hôpital de malades contagieux, donc fortement souillé d'espèces pathogènes, par chloration convenable sous violente agitation.

L'agent chlorant peut être le chlore ou un hypochlorite dont la concentration sera proportionnée à la « consommation » chimique réalisée par le milieu. Le temps de contact sera suffisamment prolongé : 1/2 heure à 1 heure avant le rejet à l'extérieur. L'introduction simultanée des gaz de combustion de chaudière, par un dispositif approprié, pourrait permettre d'abaisser utilement le pH et d'élever la température, ce qui favorise l'action du chlore. La chloration gagne à être réalisée avant fermentation.

Il est probablement possible de réaliser une désinfection du sewage, c'est-à-dire d'inhiber les germes pathogènes avant d'atteindre la stérilisation totale, certains germes banaux se révélant particulièrement résistants et d'autres tels les bactériophages, relativement résistants, étant utilisables ultérieurement pour l'auto-épuration finale.

Vu :

LE DOYEN :

A.-H. HERMANN.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE :

M. CHAMBON.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 13 Décembre 1952.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

A. ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

1. CAMBIER (R.). — Epuration des eaux usées. Ann. d'Hyg. Paris, 1926. 509-527.
7. CALVERT (C. K.). — Sewage chlorination. Indust. & Engin. Chem., 24 : 92-94 Janvier 1932.
40. COSTIGAN (S. M.). — Comparizon of germicidal efficiency of hypochlorites of high and low alcalinity. J. Bact., 34 : 1-8, Juillet 1937.
40. ——— Effectiveness of hot hypochlorites of low alkalinity, in destroying Mycobacterium tuberculosis. J. Bact., 32 : 57-63, Juillet 1936.
19. DAKIN et DUNHAM. — Manuel des antiseptiques. Vigot édit. 1916.
6. DAKIN. — Traitement des blessures de guerre par les hypochlorites. Presse Médicale, 30 septembre 1916.
41. DIENERT (F.) et ETRILLARD (P.). — Action du chlore libre sur les microbes. Compt. rend. Acad. d. sc., 185 : 621-623, 26 septembre 1927.
8. FICHERSTRÖM et GULLSTRÖM. — Appareil pour introduire dans l'eau des quantités déterminées de gaz stérilisant. B. Suéd., 116 : 969, 31 mai 1941.
24. GAD (G.) et PRIEGNITZ (E.). — Dosage du chlore libre dans l'eau, au moyen de colorants sensibles à cet élément. Gesund. Ingen., 68 : 174-176, n° 6, 1948.
22. GILCREAS (F. W.). — Essai amélioré du chlore résiduel. Wat. a Sew. Wks., 95 : 159-160, n° 4, Avril 1948.
31. GREEN (D. E.) et STUMPF (P. K.). — Mode d'action du chlore. J. Am. Waterwks Ass., 38 : 1301-1305, n° II, Novembre 1946.
9. HORNUNG (M.). — Installation de chloration de l'eau potable. Monats Bull. Schweiz. ver. Gaz u. Wässerfachmann, 28 : 38-39, Février 1948.
10. IMBEAUX (E.). — Les Eaux. Masson édit.
 — Sur la rapidité de stérilisation de l'eau par le chlore ou la chloramine, suivant sa teneur en matières organiques et suivant son pH. Rev. d'Hyg., 58 : 120-123, Février 1938.
15. ——— Effet de la chloration sur les boues activées dans le traitement des eaux d'égoût. Rev. d'Hyg., 58 : 206-207, Mars 1936.
33. JOHNS (C. K.). — Germicidal power of sodium hypochlorite effect of addition of alcali. Indust. & Engin. Chem., 26 : 787-788, Juillet 1934.
17. KARRER. — Traité de Chimie Organique.

4. LÉPINE (P.) et MARCENAC (F.). — Action du chlore sur les matières fécales en vue de la destruction du virus de la poliomyélite. *Bull. Acad. Nat. méd.*, 132 : 262-266, 6-13 avril 1948.
16. LEROUX (L.). — Du pouvoir fixateur de l'eau d'égout et de l'urine à l'égard du chlore gazeux. *Rev. d'Hyg.*, 55 : 265-280, Avril 1933.
37. MARKS (H. C.), WYSS (O.), STRANDKOV (F. B.). — Studies on mode of action of compounds containing available chlorine. *J. Bact.*, 49 : 299-305, Mars 1945.
21. Mme MIGETTE. — Dosage du chlore résiduel dans les eaux. *Rev. d'Hyg.*, 59 : n° 3, Mars 1937.
13. MOUNSEY (R. J.) et HAGAR (M. C.). — Suppression des odeurs et saveurs au moyen de peroxyde de chlore. *J. Am. Waterwks Ass.*, 38 : 1051-1056, n° 4, Septembre 1946.
35. MUDGE (C. S.) et SMITH (F. R.). — Relation of action of chlorine to bacterial death. *Am. J. Pub. Health.*, 25 : 442-447, Avril 1935.
- NICOLLE (P.). — Le Bacteriophage. *Biol. med.*, 38 : 233-306, n° 9-10, Oct.-Déc. 1949.
18. PALIN (A. T.). — Effet de l'ammoniaque sur l'efficacité germicide du chlore en solution neutre. *J. Inst. Sanit. Eng.*, 44 : 98-129, n° 2 et 3, Juillet 1941.
26. RUDOLFS (W.) et ZIEMBA (J. V.). — Efficiency of chlorine in sewage disinfection, as affected by certain environmental factors. *J. Bact.*, 27 : 419-442, Avril 1934.
12. SALAS et KEMPNEY. — Emploi de peroxyde de chlore dans l'épuration de l'eau. *Ind. y Quim.*, 99 : 119-130, n° 9, Juin 1947.
14. Société des Etudes : « Eau et Assainissement », 93, Rue des Roches, Paris. — Projet d'installation d'épuration des eaux usées, pour le Sanatorium des Petites-Roches (Isère).
11. TECHOUËYRES et PILLEMENTS. — Contribution à l'étude de l'assainissement des eaux d'égouts, par l'introduction de doses infimes d'hypochlorite de soude, suivie d'un brassage énergétique. *Bull. Acad. Méd. Paris*, 97 : 385-388, 22 mars 1927.
34. TONNEY (F. O.), GREER (F. E.) et LIEBIG (G. F. JR.). — Minimal « Chlorine death-points » of bacteria : vegetative forms; spore-bearing organisms. *Am. J. Pub. Health.*, 20 : 503-508, Mai 1930.
42. TONNEY (F. O.), GREER (F. E.) et DANFORTH (T. F.). — Minimal « Chlorine death-points » of bacteria : vegetative forms. *Am. J. Pub. Health.*, 18 : 1259-1263, Oct. 1928.
20. WETTE (H.). — Chlorzahl und Chlorbedarf des Waters. *Arch. f. Hyg.*, 99 : 143-157, 1928.

Nous avons consulté également :

- BAITY (H. G.). — Studies on use of chlorine in sewage treatment. *Am. J. Pub. Health.*, 18 : 199, Avril 1928.
- BARKER (A. N.). — Chloration de l'eau au « Break point ». *Proc. Leeds Phil. & Lit. Soc.*, n° 2, 87-96, Juillet 1943.

- FAIR (G. M.), MONIS (J. C.), CHANG (S. L.). — Dynamique de la chloration de l'eau. J. New Eng. Waterwks Ass., 61 : 285-301, Décembre 1947.
- HALLER (L. F.) et LISTECK (S. S.). — Dosage du peroxyde de chlore. Analyt. Chem., 20 : 639-642, n° 7, Juillet 1948.
- LE STRAT (A.). — Essai biologique dans l'épuration des eaux d'égoût.
- LEVADITI (C.). — Sur la présence du virus de la poliomyélite dans les eaux usées. Bull. Acad. Méd. Paris, 123 : 335-337, 23-30 avril 1940.
- LEVADITI (C.), KLING et LÉPINE (P.). — Action du chlore sur le virus poliomyélitique. Bull. Acad. Méd. Paris, 105 : 190-205, 10 février 1931.
- MARKS (H. C.), JOINER (R. R.), STRANDKOV (F. B.). — Titrage ampérométrique du chlore résiduel. Wat. a sew. wks., 95 : 175-178, n° 5, Mai 1948.
- PAUL (J.-R), TRASK (J.-D.). — Virus of poliomyelitis in sewage. J. A. M. A., 116 : 493-498, 8 février 1941.
- RÉMY (E.). — Das Verhalten aktiver Chlorpräparate gegenüber organische Materie. Biochem. Ztschr., 180 : 97-104, 1927.
- RIDENOUR (G. M.) et INGOLD (R. S.). — Bactericidal properties of chlorine dioxide. Bull. Hyg., 22 : 713, Novembre 1947.
- Inactivation of poliomyelitic virus by « free » chlorine. Am. J. Pub. Health., 36 : 639-644, Juin 1946.
- TRASK (J. D.) MELNICK (J. L.) et WENNER (H. A.). — Chlorination of human, monkey-adapted and mouse strains of poliomyelitic virus. Am. J. Hyg., 41 : 30-40, Janvier 1945.
- WEBER (G. R.), BENDER (R.) et LÉVINE (M.). — Effet de l'ammoniaque sur l'efficacité germicide du chlore en solution neutre. J. Am. Waterwks Ass., 32 : 1904-1912, n° 11, Novembre 1940.
- WEBER (G. R.) et LÉVINE (M.). — Factors affecting germicidal efficiency of chlorine and chloramine. Am. J. Pub. Health., 34 : 719-728, Juillet 1944.

Nous regrettons de n'avoir pu nous procurer :

- THÉRIAULT (E. J.). — Ortholidine reagent for free chlorine in water. Pub. Health Rep., 42 : 668-672, 11 mars 1927.

TABLE DES MATIERES

PREMIERE PARTIE

ETUDE DE LA CHLORATION SUR LES MATIÈRES ORGANIQUES	13
<i>Introduction</i>	17
<i>Chapitre 1.</i> — Aspects généraux du traitement des eaux résiduaires.	19
<i>Chapitre 2.</i> — Le chlore actif, agent bactéricide	31
<i>Chapitre 3.</i> — Caractères physiques et chimiques du sewage	39
<i>Chapitre 4.</i> — Dosage du chlore actif	45
<i>Chapitre 5.</i> — Action du chlore sur les matières organiques	55

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE LA CHLORATION SUR LES BACTÉRIES	71
<i>Chapitre 1.</i> — Résistance d'un germe au chlore actif	75
<i>Chapitre 2.</i> — Etude du pouvoir bactéricide des composés organiques chlorés et des hypochlorites	95
<i>Chapitre 3.</i> — Influence d'une agitation énergique au contact de l'air	103
<i>Chapitre 4.</i> — Chloration du sewage	107
<i>Discussion</i>	119
<i>Conclusions</i>	137
<i>Bibliographie</i>	141

